

---

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## ÉTUDES SUR L'IMMUNITÉ

(3<sup>e</sup> MÉMOIRE)

PAR M. EL. METCHNIKOFF.

---

### IMMUNITÉ DES LAPINS VACCINÉS CONTRE LE MICROBE DU HOG-CHOLÉRA

Où résident les forces microbicides de l'organisme réfractaire? Sont-elles dans les humeurs ou bien dans les éléments cellulaires, notamment dans les phagocytes qui détruisent les microbes? Telle est la question capitale qui a été spécialement visée dans les recherches de ces derniers temps sur l'immunité.

Les quatre premiers mémoires que j'ai déjà publiés ont été surtout consacrés à la solution de ce problème. Après avoir démontré (V. mémoires 2 et 3) que, même dans les cas où l'on niait une action phagocytaire quelconque (comme dans le charbon des pigeons et des rats), les phagocytes jouent un rôle incontestable, il a fallu prouver que ces cellules détruisent des bactéries englobées à l'état vivant. Cette preuve a été fournie à maintes reprises, pour la bactériémie charbonneuse, comme pour d'autres microbes, notamment le *Vibrio Metchnikowii*. L'objection, d'après laquelle les phagocytes ne seraient capables d'englober que les microbes morts, était donc définitivement réfutée.

D'un autre côté il a été prouvé que la théorie qui attribue l'action bactéricide à des substances circulant dans le sang ou sécrétées par des cellules de l'organisme vacciné, n'est point

confirmée par l'étude de l'immunité. Les faits invoqués par certains savants (*Emmerich et di Mattei*), comme démontrant l'existence de sécrétions liquides qui détruiraient les bactéries en très peu de temps (20 minutes à 2 heures), ont été trouvés inexacts (V. notre premier mémoire).

Le meilleur argument en faveur de la théorie bactéricide des humeurs est celui qui est tiré de la propriété du sérum des cobayes vaccinés contre le *Vibrio Metchnikowii*; il a cependant perdu toute son importance dès qu'il a été prouvé que cette force bactéricide ne se manifeste point dans l'organisme du cobaye vacciné (4<sup>e</sup> mémoire).

Les faits que je viens de citer, ainsi qu'un grand nombre d'autres, bien établis dans ces dernières années, ont fourni la preuve définitive que *les forces bactéricides de l'organisme résident dans les phagocytes et non dans les humeurs*.

Mais la discussion du problème de l'immunité, concentrée d'abord sur la question de la propriété bactéricide de l'organisme, a conduit à approfondir beaucoup l'analyse des phénomènes de l'état réfractaire. La théorie humorale de l'immunité a fait valoir deux facteurs nouveaux dans la production de l'état réfractaire, à savoir : la propriété des humeurs d'atténuer les microbes, c'est-à-dire d'empêcher la production des toxines, et cette autre propriété de détruire les toxines qui n'ont pas pu être entravées dans leur production. Ce sont donc deux ramifications de la théorie humorale : *la théorie de la propriété atténuante et la théorie du pouvoir antitoxique ou toxinicide des humeurs*, qui sont passées à l'ordre du jour.

Pour ce qui concerne la propriété atténuante des humeurs, l'étude en est simple, vu la facilité de séparer les bactéries, cultivées dans les humeurs des animaux vaccinés, de ces milieux de culture.

Les recherches sur la propriété antitoxique des humeurs sont plus difficiles. Constatée d'abord dans les humeurs des animaux vaccinés contre le tétanos et la diphtérie (*Behring et Kitasato*), cette propriété a été ensuite attribuée au liquide sanguin des lapins, vaccinés contre le pneumocoque (*G. et F. Klemperer*).

Mais la diphtérie et le tétanos nous présentent des types de maladies essentiellement toxiques, avec une localisation toute



spéciale des bacilles qui les provoquent. Le pneumocoque a le défaut de produire des toxines très faibles et très inconstantes dans leur action.

J'ai donc été conduit à choisir une autre espèce de bactéries, afin d'étudier le rôle de la propriété antitoxique des humeurs dans l'immunité acquise. Je me suis arrêté au microbe du « hog-choléra », ou pneumo-entérite des porcs. Cette bactérie provoque chez les lapins une maladie aiguë accompagnée d'une généralisation considérable du microbe ; elle produit des toxines très actives et qui agissent avec régularité. Le lapin, bien que très sensible au hog-choléra, peut être facilement vacciné contre cette maladie et fournit des quantités de sang tout à fait suffisantes pour l'étude de la propriété antitoxique. Un autre avantage du hog-choléra, c'est la facilité avec laquelle des doses même très petites provoquent la maladie mortelle chez des lapins.

Mes études ont été très facilitées par l'excellent travail de M. Selander <sup>1</sup>, exécuté sous la direction de M. E. Roux. J'ai pu, à maintes reprises, en reconnaître la parfaite exactitude.

Le microbe qui a servi à mes recherches provient d'une épidémie qui a sévi sur des porcs à Gentilly. Il a été mis à ma disposition par M. le professeur Chantemesse, auquel je m'empresse d'exprimer tous mes remerciements <sup>2</sup>.

## I

### LE MICROBE DU « HOG-CHOLÉRA » ET SA TOXINE <sup>3</sup>.

Le microbe du « hog-choléra », étudié par un assez grand nombre d'observateurs (Salmon, Cornil et Chantemesse, Frosch, Selander, B. Afanassieff, etc.) doit être rangé dans le genre *Coccobacillus*. Il peut être désigné sous le nom spécifique de *Coccobacillus suinum*, et se caractérise par un pléomorphisme des

1. *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1890, p. 575.

2. Pour la description du microbe, v. Cornil et Chantemesse : *Journal de l'anat.*, 1888, p. 618.

3. Sous le nom de « toxine », je désigne simplement la ou les substances contenues dans le sang des lapins morts du hog-choléra, qui provoquent une intoxication.

plus prononcés<sup>1</sup>. Les bacilles à bouts arrondis se transforment en filaments plus ou moins longs, mais peuvent aussi donner naissance à de véritables cocci. La forme véritablement sphérique de ces derniers est surtout apparente chez les individus dont une moitié seulement a retenu la couleur (bleu de méthylène), tandis que l'autre moitié est restée presque incolore.

Mais ce n'est pas seulement l'alternance des filaments avec des bacilles et des cocci qui s'observe dans l'évolution du microbe du hog-choléra. Dans des conditions de culture particulières (qui seront exposées dans le chapitre IV), ce microbe prend la forme de véritables streptocoques. On observe alors des cha-pelets plus ou moins longs, composés de cellules ovales ou le plus souvent rondes. Dans ce dernier cas on a sûrement affaire à des formes végétatives sphériques, et non à des arthrospores, comme on l'avait soupçonné dans d'autres cas de pléomorphisme.

La variabilité du microbe du hog-choléra se manifeste encore sous d'autres rapports. Dans les cultures, faites dans le bouillon, le coccobacille est extrêmement mobile; dans les cultures préparées dans du sang ou dans le sérum sanguin, ainsi que dans l'organisme animal, ce même microbe est entièrement privé de mouvements.

Il n'entre pas dans le plan de cette étude de faire l'exposé des particularités morphologiques et culturelles présentées par le *Coccobacillus suinum* : aussi je n'entretiendrai le lecteur que de la propriété de ce microbe de produire dans le sang des lapins infectés des substances toxiques très actives. Cette découverte a été faite par M. Selander. Après avoir renforcé son virus par des passages successifs à travers des pigeons, M. Selander a pu constater que le sang des lapins ayant succombé à une infection suraiguë, chauffé à 54-58°, produit chez des lapins une intoxication mortelle et très caractéristique. Entre la virulence du microbe et la toxicité du sang chauffé jusqu'à 60°, il a observé un parallélisme complet. Plus le microbe est virulent, plus le sang chauffé manifeste sa propriété toxique. Ce sang, chauffé à des températures plus élevées, perd de sa toxicité; porté à 100°, il devient complètement inoffensif. Sous ce rapport,

1. A cause de l'intérêt général que présente le microbe du hog-choléra, je me propose d'en faire une étude morphologique spéciale.



la toxine du microbe du hog-choléra se rattache à celles de la diphtérie et du tétanos.

Chez les lapins, les phénomènes morbides qui succèdent à une infection aiguë, occasionnée par une injection intraveineuse du virus très virulent, correspondent parfaitement au tableau de l'intoxication mortelle, produite par l'injection intraveineuse de sang toxique. Dans les deux cas les lapins tombent malades bientôt après l'injection. La température présente une élévation passagère, suivie d'hypothermie qui se prolonge jusqu'à la mort. Dans les cas les plus aigus, la température commence à baisser aussitôt après l'injection du virus ou de la toxine. Les leucocytes diminuent dans les deux cas dans une grande proportion. La respiration est d'abord très accélérée et ne se ralentit qu'avant la mort. La paralysie, qui débute par le train postérieur et s'étend à la partie antérieure du corps, ainsi que les convulsions prémortelles, complètent la ressemblance entre le tableau de l'infection et celui de l'intoxication aiguës. L'autopsie dans les deux cas donne les mêmes résultats, pour la plupart négatifs. Les organes internes sont hyperémiés, la rate est un peu hypertrophiée, la vessie urinaire est vide, l'examen microscopique seul révèle tout de suite la plus grande différence; tandis que le sang des lapins intoxiqués est privé de microbes (résultat confirmé par les ensemencements), celui des animaux infectés renferme des quantités immenses du microbe du hog-choléra, en forme de diplocoques, de bactéries courtes et ovales, ou de véritables cocci.

Il ne peut donc subsister aucun doute sur ce fait que le *Coccobacillus suinum* produit une ou plusieurs substances toxiques dans le corps des lapins, et que cette toxine résiste à des températures de 54-58° et même de 60°.

Tandis que l'injection intraveineuse de fortes doses (à partir de 1,5 cc de sang chauffé) produit chez les lapins une intoxication mortelle, l'introduction dans le système sanguin ou dans le tissu sous-cutané de doses plus faibles, plusieurs fois répétées, confère au lapin une immunité solide contre le virus extrêmement mortel. Ce résultat, obtenu pour la première fois par M. Selander, a été confirmé à maintes reprises dans mes recherches. Le procédé de vaccination par le sang chauffé, indiqué par cet auteur, m'a servi pour vacciner un grand nombre de

lapins. En faisant les injections à des intervalles de plusieurs jours et quelquefois de plusieurs semaines, et en introduisant des quantités totales deux fois plus grandes que la plus petite dose mortelle, j'obtenais une vaccination certaine, sans avoir de pertes à signaler.

## II

### LE SÉRUM DES LAPINS VACCINÉS EST-IL BACTÉRICIDE OU ANTITOXIQUE ?

Les lapins, vaccinés avec du sang stérilisé, ont toujours été éprouvés à l'aide de sang frais, provenant de pigeons ou de lapins, morts du hog-choléra. Ce sang était inoculé sous la peau des lapins vaccinés. Les injections intraveineuses étaient évitées, parce qu'elles étaient toujours mortelles pour ces lapins, dont le sang et les organes,ensemencés après la mort, restaient pourtant quelquefois stériles.

Tandis que les témoins, inoculés sous la peau, mouraient dans les vingt-quatre heures ou plus tard, les lapins vaccinés ne présentaient, à la suite de l'inoculation d'épreuve, que de la suppuration à l'endroit inoculé.

Lorsque les lapins ainsi éprouvés étaient complètement remis de leur malaise, à des périodes très différentes (5, 6, 7, 11, 13, 16, 19, 30 jours après l'inoculation d'épreuve), on leur retirait, en suivant les règles d'une asepsie rigoureuse, du sang artériel qu'on laissait se coaguler pour obtenir le sérum. Celui-ci, mis dans des tubes à essai en quantité de 5 à 10<sup>cc</sup>, étaitensemencé avec une anse de platine de sang de pigeon ou de lapin, morts de hog-choléra. La même opération a été pratiquée avec le sérum de lapins neufs, c'est-à-dire non vaccinés.

Dans tous les cas, sans exception, il se développa une culture très riche du *Coccobacillus suinum* dans le sérum des lapins vaccinés et neufs. Déjà, quelques heures après l'ensemencement, il se formait un trouble léger et uniforme dans toute la masse du sérum. Le lendemain, celui-ci était rempli d'une grande quantité de bacilles du hog-choléra, répandus dans tout le liquide. Chose singulière, dans tous les cas sans une seule exception, le sérum des lapins vaccinés a donné des cultures plus riches en bacilles que celui des lapins non vaccinés.



Examinées au microscope, ces cultures présentaient des quantités de bactéries ovales sous forme de mono-ou de diplobacilles. Les chaînettes, composées de quatre cellules et plus, ne se trouvaient que dans des cas exceptionnels, dans le sérum des vaccinés aussi bien que dans celui des lapins neufs.

On peut donc conclure que *le sérum des lapins vaccinés et même celui des lapins hypervaccinés permet une culture très abondante du microbe du hog-choléra, qui se développe sous un aspect et avec des formes absolument normales.*

2. Le sérum des lapins vaccinés, incapable de tuer ou d'empêcher le développement des bactéries du hog-choléra, possède peut-être la propriété de détruire les substances toxiques de ce microbe, ou d'empêcher leur action dans l'organisme du lapin? Pour élucider cette question, nous nous sommes servis de la méthode employée par M. Behring. Nous avons laissé des quantités de sang toxique (c'est-à-dire le sang des lapins morts à la suite d'une infection suraiguë, chauffé à 58° pendant une heure), capables de tuer un lapin, en contact avec le sérum des lapins vaccinés ou hypervaccinés contre le microbe du hog-choléra. Un volume de sang toxique, additionné d'un volume d'eau distillé, était mélangé avec deux ou plus souvent avec quatre volumes de sérum de lapins réfractaires. Le mélange a été conservé dans le laboratoire ou dans un endroit froid pendant 16, 18 1/2, 23, 24 et 24 heures.

Les mêmes quantités de sang toxique, additionné de son volume d'eau, ont été mélangées dans les mêmes proportions avec du sérum de lapins neufs, non vaccinés. Les mélanges étaient conservés pendant le même temps et dans les mêmes conditions que celui du sang toxique et du sérum des lapins vaccinés.

Cinq expériences, faites avec ces mélanges, ont démontré l'absence totale d'une propriété antitoxique du sérum, comme on peut en juger d'après les détails de l'appendice N° I. Malgré les variations dans la réceptivité individuelle (fait indiqué déjà par M. Selander, p. 557 de son mémoire), les cinq lapins qui ont reçu le mélange des toxines avec le sérum des vaccinés, sont tous morts en 45 minutes, 1 heure 7 minutes, 1 heure 25 minutes, 14 et 40 heures.

Les lapins, inoculés avec le mélange du sang toxique et de

sérum de lapins neufs, sont également tous morts dans l'espace de 8 minutes, 1 heure 10 minutes, 2 heures, et 2 heures 10 minutes. Un dernier n'est mort que le onzième jour après l'inoculation. Mais, malgré cette longue survie chez un témoin, on voit que ni le sérum des lapins neufs, ni celui des lapins vaccinés, n'exerce aucune influence sur la toxine du hog-choléra.

Les différences observées dans le temps de la mort des lapins doivent être plutôt considérées comme le résultat d'une sensibilité individuelle vis-à-vis les toxines.

Les lapins témoins qui ont reçu le sang toxique seul, sans addition de sérum quelconque, sont morts entre 1 heure 15 minutes et 4 heures 8 minutes après l'injection.

Le sang, qui a servi pour les expériences sur la propriété antitoxique du sérum des lapins vaccinés, a été retiré 5, 11, 13 et 19 jours après l'inoculation d'épreuve, lorsque les lapins ne présentaient plus aucun malaise. Dans une expérience, faite avec le sang d'un lapin hypervacciné, la saignée a été pratiquée 48 jours après la dernière inoculation d'épreuve par un virus vivant, et 4 jours après une injection intraveineuse de 2<sup>cc</sup> de sang toxique chauffé à 58°.

*Les faits observés ne permettent donc point d'admettre l'existence d'une propriété antitoxique du sérum des lapins réfractaires contre un virus mortel du hog-choléra.*

### III

#### LE SÉRUM DES LAPINS VACCINÉS POSSÈDE-T-IL LA PROPRIÉTÉ D'ATTÉNUER LES MICROBES DU HOG-CHOLÉRA?

Passons maintenant à l'examen de la virulence du *Coccobacillus suinum*, cultivé dans le sérum des lapins vaccinés.

Ces cultures, injectées dans les veines ou sous la peau des lapins, leur donnent la maladie mortelle dans tous les cas sans exception, mais les animaux meurent toujours plus tard que les témoins, inoculés avec des cultures faites dans le sérum des lapins non vaccinés.

Tandis que ces témoins, après une inoculation intraveineuse de culture dans le sérum normal, meurent en quelques heures, les lapins inoculés avec les mêmes doses de culture dans le



sérum des lapins vaccinés ne meurent qu'au bout de 3 à 5 jours. La survie est encore plus considérable après les inoculations sous-cutanées des mêmes cultures (V. Appendice n° II).

Les cultures dans le sérum des vaccinés donnant toujours la maladie mortelle, on ne peut donc pas conclure à une atténuation considérable des microbes dans ce milieu; cependant on pourrait être tenté d'attribuer à ce sérum un certain degré de puissance atténuante vis-à-vis du *Coccobacillus suinum*, puisque la maladie dure plus longtemps.

Pour élucider cette question, il est indispensable de séparer les microbes, développés dans le sérum des lapins vaccinés, du liquide lui-même, car il est possible que le sérum seul puisse ralentir la marche de la maladie chez les lapins inoculés.

Comme les bacilles du hog-choléra produisent dans le sérum des lapins vaccinés un trouble général, le seul moyen de les séparer de leur milieu de culture consiste à les isoler par voie de filtration. J'ai employé des filtres de papier au travers desquels je laissais passer le liquide de culture, après quoi je lavais avec quelques centimètres cubes d'une solution physiologique de chlorure de sodium. Malgré ce lavage, une partie des substances du sérum devait nécessairement rester adhérente aux microbes, qui, comme l'on sait, sont couverts d'une gaine gélatineuse. Outre cet inconvénient, il y en a bien d'autres encore. Le filtre de papier laisse perdre quantité de microbes, qui s'échappent avec le sérum et le liquide de lavage. Une autre partie des bacilles reste adhérente aux fibres du papier. On n'arrive donc, en frottant le filtre avec un pinceau stérilisé, qu'à recueillir une fraction des microbes qu'on délaye dans un peu de solution de  $\text{ClNa}$  à 7/1000.

Pour me faire une idée de l'influence que pourrait exercer une pareille méthode, j'ai fait une expérience comparative avec les bacilles du hog-choléra, cultivés dans du sérum d'un lapin normal, non vacciné. Un lapin, inoculé dans la veine auriculaire avec 1 c.c. d'une pareille culture, est mort 7 heures 30 minutes après l'injection; un autre, qui a reçu le résidu de la filtration de 1 c.c. de la même culture, n'est mort qu'en 21 heures (le poids des deux lapins était à peu près égal : 1,630 et 1,650 grammes). Il y a donc un retard considérable à la suite des pertes de microbes, occasionnées par la filtration et le lavage.



Eh bien, malgré toutes les causes qui diminuent l'action pathogène des bacilles cultivés dans le sérum des lapins vaccinés, la mort des lapins, inoculés avec ces cultures filtrées et lavées de la façon indiquée, survient toujours plus vite que chez les lapins qui ont reçu des cultures non filtrées. Dans une expérience, le lapin inoculé avec le résidu du filtre est mort en 18 heures, tandis que son témoin, inoculé avec une culture non filtrée, n'a succombé qu'en 108 heures. Quelquefois la mort des lapins, infectés avec des bacilles aussi débarrassés que possible du sérum, survient plus tard ; mais dans ces cas on constate tout de même une influence du sérum. Ainsi deux lapins, inoculés avec le résidu resté sur le filtre, mouraient en 29 et 40 heures, et leurs témoins, inoculés avec les mêmes cultures non filtrées, mouraient en 85 et 244 heures (v. Appendice III).

Ce retard dans la mort, à la suite de l'inoculation des cultures faites dans le sérum des lapins vaccinés, n'est pas dû à une véritable atténuation, mais à une action spéciale du sérum ; celle-ci doit se manifester aussi lorsqu'on inocule des microbes développés dans leur milieu habituel, et mélangés à du sérum d'animaux vaccinés. Les expériences confirment pleinement cette supposition, comme nous le démontrons dans le chapitre suivant. Le sérum des vaccinés agit sur les bacilles du hog-choléra les plus virulents (ceux, par exemple, du sang des lapins ou des pigeons) ; mais tandis que les cultures dans le sérum des vaccinés tuent avec un retard, le mélange du sérum avec les coccobacilles virulents ne produit qu'une maladie passagère.

Les cultures dans du bouillon, faites avec des coccobacilles développés dans le sérum des vaccinés, sont au moins tout aussi virulentes que celles qui ont été préparées avec des microbes développés dans le sérum des lapins neufs, et transplantés ensuite dans du bouillon.

De tout cet ensemble de faits *on ne peut pas conclure à une atténuation des bacilles du hog-choléra, cultivés dans le sérum des lapins vaccinés*. Comme le degré de virulence doit être en rapport avec la propriété du microbe de produire ses toxines, il serait intéressant de savoir si les coccobacilles, cultivés dans le sérum des lapins vaccinés, donnent à ce sérum des propriétés toxiques.

Ensemençons, avec une anse de platine de sang virulent,



deux tubes à essai, dont l'un renferme du sérum d'un lapin vacciné, et l'autre du sérum d'un lapin témoin, non vacciné. Laissons les microbes se développer pendant cinq jours, et stérilisons les cultures obtenues à 58° pendant une heure. L'effet de l'inoculation de ces cultures stérilisées dans la veine auriculaire des lapins, nous montrera si dans celle faite avec le sérum des lapins vaccinés il existe des substances toxiques. Deux expériences, entreprises dans ce but, ont démontré que les cultures stérilisées provoquent une maladie très manifeste, qui se traduit par la faiblesse de l'animal et une élévation de la température (v. Appendice IV). Les différences qui ont pu être notées s'expliquent par une réceptivité inégale des lapins. Cette interprétation est d'autant plus admissible que dans une expérience c'est le lapin qui a reçu la culture sur du sérum de vacciné qui a réagi le plus, tandis que dans l'autre c'est l'inverse qui a eu lieu.

L'analyse de la virulence des cultures dans le sérum des vaccinés nous a démontré l'absence d'une atténuation des microbes, et nous a conduit d'autre part à admettre une action très marquée de ce sérum sur la marche de la maladie. Examinons cette dernière propriété de plus près.

#### IV

##### PROPRIÉTÉ PRÉVENTIVE DU SÉRUM DES LAPINS VACCINÉS.

Nous avons déjà mentionné que le sérum des lapins vaccinés préserve les lapins contre le hog-choléra. Ce résultat est tout à fait constant, et peut être obtenu non seulement en injectant le sérum au même endroit que le sang virulent, mais même en l'introduisant dans des points très éloignés du lieu d'inoculation. Les lapins, qui reçoivent sous la peau, d'un côté une quantité du sang le plus virulent suffisante pour tuer les lapins témoins, et de l'autre côté, du sérum de lapin vacciné, ne manifestent qu'une suppuration locale et guérissent sûrement. Le sérum, injecté dans les veines, préserve également les lapins auxquels on a inoculé sous la peau la dose mortelle de virus.

Le sérum peut être injecté en même temps que le sang viru-

lent, ou bien avant l'introduction du virus. Ainsi, un lapin qui a reçu dans la veine auriculaire 4,5 c.c. du sérum d'un lapin vacciné, a parfaitement résisté à une inoculation avec 0,33 c.c. de sang virulent (dose mortelle pour le témoin), injecté dans le tissu sous-cutané.

Tandis que le sérum des lapins vaccinés est un préservatif très efficace contre l'inoculation sous-cutanée, il retarde seulement la mort si le virus est introduit dans les veines. Dans une expérience, dans laquelle le sang virulent a été injecté dans la veine auriculaire d'un lapin qui a reçu 3,5 c.c. du sérum vaccinal, la mort est survenue en 42 heures, tandis que le témoin qui n'a pas été traité par le sérum est mort en 5 heures 20 minutes. L'injection de doses plus fortes de sérum aurait peut-être agi d'une façon plus efficace.

La dose minima de sérum nécessaire pour empêcher la maladie mortelle (après des injections sous-cutanées de virus) est de 0,5 c.c. Dans une expérience, où je ne me suis servi que de 0,25 c.c., la mort n'a pas été empêchée, mais elle est survenue cinq jours après celle du témoin.

Tous les lapins vaccinés contre le hog-choléra fournissent un sérum vaccinant. Le sérum, obtenu avec du sang retiré peu de temps (3 jours) après l'inoculation d'épreuve, est tout aussi actif que celui qui a été retiré dans des périodes beaucoup plus avancées.

La propriété vaccinnante du sérum dépend bien plus de la quantité de toxines injectées aux lapins vaccinés que de l'état vraiment réfractaire de ces derniers. Je déduis cette conclusion de quelques observations que j'ai pu faire dans le courant de mes recherches. J'ai vu un lapin vacciné avec des doses plus que suffisantes (4 c.c. de sang toxique), et qui avait résisté à l'inoculation d'épreuve, mourir à la longue avec des signes évidents d'une infection généralisée, due au microbe du hog-choléra. Et cependant son sérum, retiré quelques jours avant la mort, était tellement actif que 0,5 c.c. suffisait pour préserver un lapin contre une infection mortelle avec du sang virulent, injecté dans le tissu sous-cutané.

D'un autre côté les lapins guéris du choléra par un traitement avec le sérum des lapins vaccinés, fournissent eux-mêmes un sérum qui n'entrave pas la maladie mortelle chez d'autres lapins.



Malgré cela, les lapins guéris susmentionnés ont acquis une immunité contre le virus très virulent.

L'efficacité du sérum des lapins vaccinés, mais qui ne sont pas tout à fait réfractaires contre le hog-choléra, tient donc évidemment aux injections préalables d'assez grandes quantité de sang toxique.

Les tentatives de traitement par le sérum préventif des lapins, inoculés d'abord avec le virus, n'ont pas été nombreuses. Elles ne m'ont pas donné jusqu'à présent de résultats positifs, probablement à cause de la rapidité avec laquelle évolue le hog-choléra chez les lapins.

En multipliant ces recherches on pourrait peut-être obtenir un meilleur succès, mais l'étude de ce problème n'entraîne pas dans le plan de ce travail : elle a été réservée pour plus tard.

Les expériences sur la prévention de la maladie mortelle à l'aide du sérum suffisent déjà pour démontrer l'efficacité de ce liquide, provenant de l'organisme des lapins vaccinés (v. Appendice VI).

Mais, comme le sérum est un mélange très compliqué qui ne peut nullement être identifié avec le plasma sanguin, il serait très intéressant de se faire une idée plus précise sur le rôle préservateur de chacune de ses parties constituantes. Malheureusement il est impossible de séparer les divers éléments du sang des lapins, de sorte que le problème ne peut être résolu dans l'état actuel des méthodes scientifiques. On ne peut donc pas savoir si les substances préventives du sérum proviennent du plasma ou des éléments cellulaires. Pour ce qui concerne ces derniers, je dois mentionner que le sang des lapins vaccinés est plus riche en leucocytes que le sang normal.

Dans le but de contribuer à l'éclaircissement du problème posé, j'ai fait quelques expériences avec le liquide de l'œdème, provoqué par un arrêt de la circulation. A la base de l'oreille de trois lapins vaccinés (dont le sérum a pleinement manifesté ses propriétés préventives), on a placé un anneau de caoutchouc. Le lendemain, l'oreille a été trouvée pendante, gonflée par l'œdème. Le liquide œdémateux a pu être facilement recueilli dans des pipettes flambées. Il était tout à fait transparent, incolore et ne renfermait qu'un nombre insignifiant de leuco-

cytes. Par le même procédé j'ai pu extraire du liquide œdémateux sur trois lapins témoins, non vaccinés.

Le liquide œdémateux des deux espèces, ensemencé avec une trace de sang virulent, a donné des cultures assez abondantes du microbe du hog-choléra. Mais, tandis que dans le liquide des vaccinés, ce microbe se présentait surtout sous la forme de chaînettes, composées de bacilles ovales ou de coccus, le liquide des lapins témoins ne renfermait que les formes en mono ou en diplobacille. La différence dans la croissance des coccobacilles dans les deux espèces de liquide œdémateux est dont tout à fait frappante, tandis que dans le sérum elle est presque nulle.

Inoculées dans les veines, dans l'œil ou sous la peau des lapins, les cultures dans le liquide de l'œdème des vaccinés se sont montrées tout aussi actives que celles de contrôle (v. Appendice V). Les faibles différences qui ont été observées n'ont aucune valeur, et s'expliquent par les variations du poids et des autres caractères individuels des lapins inoculés.

Ces expériences nous démontrent qu'il y a une différence très considérable entre l'influence du liquide de l'œdème et du sérum complet des lapins vaccinés. Elles prouvent en outre que les variations dans la forme de croissance de la bactérie (streptobacilles au lieu de de diplobacilles) n'a aucun rapport avec la virulence.

Cette différence frappante entre le sérum, obtenu en dehors de l'animal, et le liquide de l'œdème puisé directement dans l'organisme, nous indique jusqu'à quel point il serait imprudent de conclure des particularités du sérum aux phénomènes qui se passent dans l'organisme vacciné. Il faut donc étudier les propriétés de celui-ci.

Ce même postulat découle également de la constatation que l'activité préventive du sérum ne peut être expliquée ni par une propriété bactéricide, ou antitoxique, ni par un pouvoir atténuant de cette humeur. Si le sérum préventif n'agit pas sur la bactérie et ses toxines, c'est qu'il doit exercer son influence sur l'organisme soumis au traitement.



## V

PROPRIÉTÉS DU MICROBE DU HOG-CHOLÉRA DANS L'ORGANISME DES  
LAPINS VACCINÉS.

1. On ne croirait jamais que le coccobacille du hog-choléra, avec son enveloppe si mince et son aspect si chétif, soit en état de résister pendant longtemps dans l'organisme des lapins tout à fait réfractaires à ce microbe. Et cependant, introduit sous la peau des lapins vaccinés, il provoque une suppuration très abondante, et se maintient à l'état vivant pendant trois semaines à peu près. Le pus, retiré après quelques jours, ou plus tard, de l'abcès sous-cutané du lapin vacciné, ne présente au microscope qu'une masse de leucocytes morts ou vivants, dans laquelle habituellement on ne trouve pas de microbes. Mais il suffit d'ensemencer un peu de ce pus dans du bouillon, pour obtenir une culture abondante du *Coccobacillus suinum*, culture toujours très virulente.

Le microbe finit cependant par périr dans le pus, et si on retire celui-ci environ trois semaines après l'inoculation du virus, le bouillon, dans lequel on l'ensemence, reste parfaitement clair et stérile.

Assez souvent l'abcès sous-cutané finit par s'ouvrir à l'extérieur, après quoi l'animal se débarrasse d'une quantité de pus ; dans d'autres cas l'abcès reste fermé et se résorbe lentement. Deux mois après l'inoculation, l'abcès est encore assez volumineux et renferme du pus blanc très épais ; plus tard il diminue et se transforme en une masse brunâtre, moins épaisse. Dans tous ces cas, le pus est stérile et on n'y trouve aucun reste de microbes détruits.

*Les bactéries, capables de résister si longtemps dans l'organisme réfractaire, finissent cependant par mourir : leur mort survient non dans le liquide, mais dans l'intérieur des phagocytes.* Si on retire le pus 48 heures après l'inoculation sous-cutanée d'un lapin vacciné, on n'y trouve déjà plus de microbes à l'examen microscopique. Mais si on place un peu de ce pus dans l'étuve à 38°, on constate facilement qu'un certain nombre de leucocytes renferment des amas de bactéries du hog-choléra qui se colorent de la façon la

plus normale. Ces bactéries se présentent sous la forme de petits bacilles ovales, de diplobactéries et aussi de chapelets. Elles se développent dans l'intérieur des globules de pus et envahissent le liquide, dans lequel elles donnent toute une culture.

Ces faits démontrent que les microbes ont été englobés vivants par les leucocytes du pus, mais que quelques-unes de ces bactéries ont résisté, et que, transportées dans des conditions défavorables aux phagocytes, elles ont envahi le pus.

Cette longue résistance des bactéries englobées fait comprendre que, dans quelques circonstances défavorables pour l'organisme du lapin, le microbe parvienne à se développer et à tuer son hôte. C'est ainsi qu'on peut le plus facilement expliquer le cas (mentionné dans le chapitre précédent), où un lapin vacciné et éprouvé par un virus mortel, a fini par succomber à une pyémie. Celle-ci a été provoquée par le microbe du hog-choléra, et est survenue presque un mois après la dernière inoculation du virus.

2. L'observation que je viens de citer rend probable que le microbe, apte à résister longtemps dans le lapin vacciné, peut finir par s'adapter au milieu, et à un moment favorable envahir l'organisme. Cela montrerait que les coccobacilles englobés conservent non seulement leur vitalité, mais aussi leur virulence dans l'intérieur des phagocytes. Cette dernière proposition peut être facilement étudiée, grâce à la circonstance que de très petites doses de virus suffisent déjà pour provoquer la maladie mortelle chez les lapins.

Le pus des lapins réfractaires, dans lequel les bactéries du hog-choléra sont contenues dans les leucocytes, est virulent. J'ai constaté ce fait important à plusieurs reprises. Le pus, retiré 48 heures après l'inoculation d'un lapin vacciné et réfractaire, a tué un lapin (auquel il a été injecté dans la veine auriculaire) en 40 heures. Dans d'autres expériences, la virulence a été plus accentuée encore. Une goutte de pus d'un lapin vacciné, retirée 4 jours après l'inoculation du virus, et injectée dans la veine d'un lapin, lui a donné le hog-choléra qui l'a tué en moins de 24 heures. Sur des préparations de ce pus, on ne pouvait déceler la présence d'aucun microbe. Chez un autre lapin vacciné qui a résisté à plusieurs inoculations virulentes, le pus injecté dans la



veine auriculaire d'un lapin neuf, a donné la mort en 29 heures et 20 minutes. Ce pus avait été retiré 17 jours après l'inoculation du lapin vacciné par du sang toxique. Tandis que le pus, qui s'est formé à l'endroit de l'inoculation, s'est montré si virulent, le sérum du même lapin vacciné a manifesté une propriété préventive très accentuée. Un centimètre cube d'une culture très riche dans ce sérum, injecté dans la veine d'un lapin, ne l'a tué qu'au bout de 78 heures. Et cependant il y a une différence énorme entre le nombre immense des microbes contenus dans une culture abondante et les quelques unités que renfermait ce pus et que l'on ne parvenait point à déceler au microscope.

On voit donc, d'après ces expériences (v. Appendice VII), *que le pus des lapins vaccinés renferme dans ses phagocytes des microbes vivants et virulents ; on voit aussi que le pus qui s'est formé à l'endroit où l'animal est attaqué par le microbe, ne manifeste pas du tout cette propriété préventive qui est si remarquable dans le sérum des mêmes animaux vaccinés.*

3. Dans les cas où l'organisme renferme des microbes qui, pendant longtemps, restent vivants et conservent leur virulence, et où malgré cela l'organisme n'est point envahi, on est toujours tenté d'admettre l'existence d'un pouvoir antitoxique. Le microbe, quoique virulent, ne nuit pas, parce que ses toxines sont détruites au moment de leur production. L'absence d'une propriété antitoxique du sérum sanguin, démontrée dans le second chapitre, ne pourrait fournir un argument suffisant, parce que l'on sait que souvent les phénomènes qui se passent dans l'organisme vivant sont bien différents de ceux qui s'observent dans le sérum obtenu en dehors de l'organisme.

Examinons donc comment se comportent les lapins vaccinés vis-à-vis des toxines. Cette question a déjà été abordée par M. Selander (*l. c.*, p. 564) qui est arrivé à la conclusion que « l'immunité contre le microbe peut être acquise sans que l'immunité contre la toxine soit établie ». Ce résultat a été établi par le fait que les lapins bien vaccinés contre un virus très virulent meurent quand ils reçoivent des doses minima du sang toxique. Des trois lapins vaccinés, empoisonnés par M. Selander, un a subi l'injection toxique 18 jours après l'épreuve par le virus mortel ; un second 19 et un troisième 27 jours après cette épreuve. Ces lapins avaient repris leur poids initial, étaient

bien portants, et cependant ils sont tous morts dans les mêmes conditions et en même temps que le témoin. M. Selander a bien voulu me rendre témoin de cette expérience, dont je puis confirmer l'exactitude.

Bien que le fait de la sensibilité des lapins vaccinés vis-à-vis des toxines ait déjà été constaté par M. Selander, j'ai voulu m'en assurer par mes propres expériences. Dans ce but j'ai injecté des doses minima mortelles de sang toxique dans la veine de trois lapins vaccinés. L'intoxication a été pratiquée 21, 62 et 109 jours après la dernière épreuve par un virus très virulent. Le premier lapin, éprouvé quatre fois par des virus vivants, avait sensiblement maigri; mais les deux autres lapins étaient complètement remis de leur inoculation d'épreuve, et avaient considérablement augmenté de poids. Eh bien, les trois lapins ont manifesté une très grande sensibilité pour le sang toxique, et sont morts avant leurs témoins, non vaccinés (v. Appendice VIII). *Les toxines, injectées dans le sang des lapins vaccinés, n'ont donc pas été neutralisées ou détruites dans leur organisme.*

Les lapins vaccinés sont également très sensibles vis-à-vis des doses de toxines non mortelles. Injectées dans la veine auriculaire, ces doses provoquent un malaise général, et une élévation de température tout à fait comme chez les témoins non vaccinés. Même le sang toxique, chauffé à 60°, produit le même effet sur les lapins réfractaires au virus vivant et sur les témoins.

Les toxines, injectées sous la peau, agissent de la même façon sur les lapins vaccinés et sur les témoins (v. Appendice IX).

Tout cet ensemble de faits démontre que *l'immunité acquise contre le hog-choléra n'est nullement due à une propriété antitoxique de l'organisme vacciné*. La résistance des lapins vaccinés, qui renferment dans leurs phagocytes des microbes virulents, n'est donc pas due à un pouvoir antitoxique de leur corps.

4. Comme il n'y a pas de destruction des toxines dans l'organisme des lapins vaccinés, peut-être ceux-ci se débarrassent-ils des substances toxiques à l'aide d'une diurèse exagérée. Les difficultés que l'on rencontre à recueillir des urines pures en quantité suffisante, et à étudier d'une façon précise leur pouvoir toxique, font que je me suis contenté jusqu'à présent d'examiner la quantité d'urine émise.



Dans le cours de la maladie lente ou aiguë, il ne se produit pas de rétention d'urine, et ce n'est que dans des cas tout à fait exceptionnels qu'on trouve à l'autopsie la vessie remplie. La mesure de la quantité d'urine émise démontre plutôt une augmentation de la diurèse pendant le hog-choléra chez des lapins.

J'ai fait une observation comparative sur deux lapins, inoculés sous la peau avec du virus virulent, dont un était vacciné et l'autre était pris comme témoin. C'est chez ce dernier que la quantité d'urine était la plus grande, aussi bien avant l'inoculation avec le virus que pendant la maladie.

Il n'y a qu'une conclusion à tirer de ces expériences, c'est que l'intoxication n'est point liée à une rétention de l'urine chez les lapins.

5. De toutes les différences qui ont pu être trouvées entre les lapins vaccinés et les témoins, la plus considérable est incontestablement celle qui concerne le système de défense phagocytaire.

Lorsqu'on inocule le virus mortel très virulent à un lapin non vacciné, dans le tissu sous-cutané, on voit se produire une hyperémie des vaisseaux environnants, mais la diapédèse est faible et la phagocytose rare. Au point inoculé il y a une tumeur molle et peu prononcée. Chez le lapin vacciné la tumeur est au contraire dure et plus grande; la diapédèse est considérable, et la phagocytose extrêmement développée.

Lorsque le virus inoculé est moins actif, il se produit chez les lapins non vaccinés une tumeur qui grossit progressivement et qui renferme aussi une quantité de leucocytes. Dans les cas de guérison, il se développe au point de l'inoculation un pus épais, constitué par des amas de leucocytes.

M. Massart (dans un mémoire publié dans ce même numéro des *Annales*) a constaté que le virus virulent du hog-choléra, contenu dans des tubes de verre et introduit dans la cavité abdominale des lapins, ne produit qu'une faible attraction chez des lapins sensibles, et au contraire attire très fortement les leucocytes chez un lapin vacciné.

*Il existe donc un parallélisme manifeste entre la résistance de l'animal et l'activité des phagocytes.*

L'injection sous-cutanée du sang toxique chauffé à 58-60°

provoque également une réaction leucocytaire très différente chez des lapins vaccinés et chez des témoins. Tandis que chez les premiers il se produit dès le début une tumeur dure qui renferme des masses de leucocytes immigrés, chez les seconds la tumeur est molle et ne renferme que peu de leucocytes. Ce n'est que plus tard, lorsque le lapin témoin entre dans le stade de la guérison, que le nombre de leucocytes augmente et que la tumeur devient plus ferme.

Ces faits se trouvent en parfait accord avec les phénomènes de la leucocytose chez des lapins infectés par le microbe, ou intoxiqués par la toxine du hog-choléra. Chez les lapins vaccinés, le nombre des leucocytes augmente sensiblement, tandis que chez les témoins il diminue d'une façon très notable. M. Werigo, dans un travail exécuté dans mon laboratoire, a constaté ce dernier fait pour la première fois, et il en parlera dans son mémoire sur ce sujet.

On voit donc, d'après tout ce qui a été dit dans ce chapitre, que *dans la résistance des lapins vaccinés contre le hog-choléra, les phagocytes qui se dirigent vers les microbes, qui les englobent à l'état vivant et virulent, et qui finissent par les détruire dans leur protoplasma, exercent une fonction de la plus haute importance. Ce rôle est d'autant plus considérable que les phagocytes ne sont point secondés par une propriété quelconque, capable de détruire les produits toxiques des microbes du hog-choléra.*

## VI

### LA RÉSISTANCE DES LAPINS TRAITÉS AVEC LE SÉRUM.

Il nous reste à examiner les phénomènes ayant lieu dans l'organisme des lapins non vaccinés qui résistent à une infection virulente, grâce au traitement par le sérum de lapins vaccinés.

Injectons 0,25 c. c. de sang très virulent sous la peau de l'oreille d'un lapin qui vient de recevoir dans la veine 3 c. c. du sérum préventif, et faisons une injection du même sang virulent sous la peau de l'oreille d'un lapin témoin, non traité par le sérum. Quelques heures plus tard nous retirons un peu d'exsudat liquide au point d'inoculation sur les deux lapins; cet exsudat ne renferme presque pas de leucocytes, mais contient



une masse énorme de microbes du hog-choléra. Le témoin meurt 9 heures 23 minutes après l'injection. Les vaisseaux de l'oreille sont fortement hyperémiés ; on extrait du point d'inoculation une goutte d'exsudat trouble, dans lequel il n'y a point de leucocytes, mais une masse de microbes.

Comme dans ce cas l'action du microbe a été très rapide (après des injections sous-cutanées les lapins ne meurent d'ordinaire qu'au bout de 24 heures ou plus tard), j'injecte au lapin traité encore 4 c. c. du même sérum dans la veine de l'oreille saine. Le lapin est manifestement malade ; l'oreille hyperémiée est devenue œdémateuse. L'exsudat liquide renferme des masses de bactéries du hog-choléra et un certain nombre de leucocytes, dont quelques-uns sont remplis de microbes.

Le lendemain, le lapin commence à se rétablir. L'œdème de l'oreille grossit et renferme un exsudat louche, dans lequel on trouve, à côté d'une masse de bactéries du hog-choléra, beaucoup de leucocytes, dont un grand nombre renferme des microbes se colorant très bien par le bleu de méthylène.

Afin de savoir dans quel état se trouvent les bactéries au commencement de la guérison, lorsque l'exsudat renferme déjà beaucoup de phagocytes, j'ai injecté trois gouttes de ce liquide sous la peau de l'oreille d'un lapin neuf. Celui-ci est mort en 15 heures, ce qui prouve que les bactéries, dont un certain nombre étaient déjà englobées (mais dont la plus grande partie se trouvaient libres dans l'exsudat), étaient très virulentes.

48 heures après le début de l'expérience, l'oreille du lapin traité renferme un exsudat assez volumineux et épais, composé d'une masse de leucocytes, mais dans lequel on ne trouve plus au microscope de bactéries, ni en dehors, ni dans l'intérieur des phagocytes. Et cependant ce pus renfermait encore des microbes virulents. Injecté sous la peau de l'oreille d'un lapin neuf, il lui a donné la mort en 51 heures 30 minutes, avec les symptômes typiques, et le sang contient en abondance les bacilles du hog-choléra.

Cette expérience démontre clairement que la guérison s'est opérée, non grâce à une action bactéricide ou atténuante des humeurs, mais bien à la suite d'une intervention des phagocytes qui ont englobé et empêché l'action nocive des bactéries.

Les bactéries du hog-choléra, chez les lapins traités avec le

sérum préventif, provoquent une suppuration locale qui persiste longtemps, tout à fait comme chez lapins vaccinés. Ce pus renferme également, pendant une longue période, des bactéries dont l'état vivant et virulent peut être facilement démontré.

Une émulsion, dans la solution physiologique de NaCl, du pus sous-cutané des lapins qui ont échappé à la mort, grâce au traitement par le sérum préventif, provoque chez des lapins neufs le hog-choléra mortel. Même prélevé 13 jours après l'inoculation du virus, le pus, injecté dans la veine d'un lapin neuf, lui a donné la mort en 20 heures avec tous les signes du hog-choléra aigu.

Les lapins, traités par le sérum préventif, renferment donc pendant longtemps, dans les phagocytes de leur pus, des microbes encore virulents, ce qui ne les empêche pas d'avoir la température normale et de se porter tout à fait bien. Ce n'est donc pas grâce à une propriété bactéricide ou atténuante des humeurs que ce résultat a pu être obtenu. On peut d'autant moins invoquer une propriété antitoxique que, comme nous l'avons vu dans le chapitre IV, le sérum des lapins, préservés par le sérum des vaccinés, n'exerce même pas de propriété préventive. De plus, nous avons vu que la propriété antitoxique fait défaut même chez les lapins vaccinés par les toxines et possédant à un degré élevé le pouvoir préventif dans leur sérum.

*Ce n'est donc pas le microbe qui est modifié par l'action du sérum préventif, mais bien l'organisme traité. De tout l'ensemble des faits exposés on peut tirer la conclusion que la préservation des lapins non vaccinés, mais traités avec le sérum, est due à une suractivité de la défense phagocytaire. Il est donc permis d'exprimer la supposition que le sérum préventif, dans l'exemple du hog-choléra des lapins, agit en stimulant les phagocytes, en les rendant moins sensibles aux toxines, et en les excitant dans leur lutte contre les bactéries.*

## VII

### CONCLUSIONS.

1. Le sérum des lapins vaccinés contre le hog-choléra ne présente pas de propriété bactéricide ou antitoxique.
2. Ce même sérum ne possède pas le pouvoir d'atténuer la virulence du microbe du hog-choléra.



3. Malgré l'absence de ces trois propriétés, le sérum des lapins vaccinés préserve les lapins neufs contre l'infection mortelle par la bactérie du hog-choléra.

4. Cette propriété préventive ne se retrouve pas dans le liquide de l'œdème provoqué par l'arrêt de la circulation.

5. La propriété bactéricide de l'organisme des lapins vaccinés réside dans les phagocytes.

6. Le pus des lapins vaccinés conserve pendant longtemps des microbes virulents.

7. L'organisme des lapins vaccinés est très sensible aux toxines du hog-choléra, et ne présente pas de propriété antitoxique.

8. Les phagocytes jouent un rôle très important dans la résistance des lapins vaccinés.

9. Les phagocytes jouent également un très grand rôle dans la résistance des lapins non vaccinés, mais traités avec le sérum préservatif. Il est probable que ce liquide exerce, dans ces conditions, une influence stimulante sur les phagocytes.

---

## APPENDICES

---

### N° I

#### EXPÉRIENCES QUI DÉMONTRENT L'ABSENCE DE LA PROPRIÉTÉ ANTITOXIQUE DU SÉRUM.

1. 3 c. c. de sang toxique, chauffé pendant une heure à 58°, et additionnés de 3 c. c. d'eau distillée, sont mélangés avec 14 c. c. de sérum d'un lapin vacciné et éprouvé.

3 autres c. c. du même sang, additionnés de 3 c. c. d'eau, sont mélangés avec 15 c. c. de sérum d'un lapin témoin, non vacciné.

Les deux mélanges sont conservés dans le laboratoire pendant 17 heures, après quoi ils ont été inoculés dans la veine auriculaire de deux lapins neufs. Celui qui a reçu le mélange avec le sérum du vacciné, meurt trois quarts d'heure après l'injection, avec les symptômes caractéristiques de l'intoxication du hog-choléra. Poids du cadavre 1,520 grammes.

Le second lapin (témoin) meurt 2 heures 10 minutes après l'injection intraveineuse. Poids du cadavre : 1,240 grammes.

2. Quatre lapins sont empoisonnés par injection intraveineuse de la façon suivante.

Le n° 1 reçoit 2,5 c. c. de sang toxique chauffé pendant une heure à 58°, additionné de 2,5 c. c. d'eau distillée, et conservé pendant 24 heures avec 115 c. c. de sérum d'une lapine vaccinée et éprouvée par le virus mortel. Cette lapine a très bien résisté à l'épreuve, a fait deux petits, et a augmenté de poids.

Le lapin n° 2 reçoit le mélange de contrôle (2,5 c. c. de sang toxique, 2,5 c. c. d'eau et 9 c. c. de sérum d'un lapin non vacciné).

Le n° 3 reçoit 2,75 c. c. de sang toxique additionné du même volume d'eau.

Le n° 4 reçoit 2,5 c. c. de sang toxique avec 2,5 c. c. d'eau.

Tous les lapins meurent avec les symptômes caractéristiques de l'intoxication avec les toxines du hog-choléra.

Le n° 1 meurt 1h. 25' après l'injection. Poids du cadavre 4,960<sup>gr</sup>.

Le n° 2 — 1h. 40' — — — 4,805

Le n° 3 — 3h. 30' — — — 4,685

Le n° 4 — 3h. — — — 4,390

3. Trois lapins ont reçu dans la veine auriculaire des toxines, préparées de la façon suivante. Le n° 1 reçoit 2,5 c. c. de sang toxique (chauffé 1 heure à 58°) + 2,5 c. c. d'eau, abandonnés pendant 18 heures 30 minutes avec 6 c. c. de sérum d'un lapin vacciné qui a d'abord résisté à l'épreuve, mais qui a fini par mourir d'une pyémie, occasionnée par le microbe du hog-choléra.

Le n° 2 reçoit 2,5 c. c. du même sang toxique + 2,5 c. c. d'eau + 6 c. c. de sérum normal.

Le n° 3 reçoit 2,5 c. c. du même sang + 2,5 c. c. d'eau.

Tous les trois meurent avec des signes caractéristiques de l'intoxication par les toxines du hog-choléra.

Le n° 1 meurt 40h. après l'injection. Poids du cadavre 4,530<sup>gr</sup>.

Le n° 2 — 2h. — — — 4,540

Le n° 3 — 1h. 27' — — — 4,550

4. Quatre lapins reçoivent dans la veine auriculaire les toxines suivantes.

Le n° 1, pesant 1,566 grammes : 2,5 c. c. de sang toxique chauffé 1 heure à 58°, + 2,5 c. c. d'eau + 9,5 c. c. de sang d'un lapin vacciné et éprouvé avec le virus mortel.

Le n° 2 (1,530 grammes) reçoit 2,5 c. c. du même sang + 2,5 c. c. d'eau + 6 c. c. de sérum normal.

(Les mélanges avec les sérums ont été conservés pendant 23 heures dans un endroit froid.)

Le n° 3 (1,675 grammes) : 2,85 c. c. du même sang + 2,85 c. c. d'eau.

Le n° 4 (1,450 grammes) : 2,5 c. c. du même sang + 2,5 c. c. d'eau.

Les 4 lapins meurent intoxiqués avec des symptômes caractéristiques.

Le n° 1 meurt 1h. 7' après l'injection.

Le n° 2 — 8' — —

Le n° 3 — 4h. 8' — —

Le n° 4 — 3h 45' — —



5. Trois lapins sont intoxiqués par injection intraveineuse de la façon suivante.

Le n° 1 (poids 1,570 grammes) reçoit 2,8 c. c. de sang toxique (1 heure à 58°) + 2,8 c. c. d'eau + 11 c. c. de sérum d'un lapin hypervacciné qui a résisté à plusieurs épreuves virulentes, qui a augmenté de poids et se porte très bien.

Le n° 2 (poids 1,560 grammes) reçoit le mélange correspondant avec le même volume de sérum normal (les deux mélanges ont été gardés pendant 24 heures au froid).

Le n° 3 (poids 1,693 grammes) reçoit 3 c. c. de sang toxique + 3 c. c. d'eau.

Les trois lapins meurent de l'intoxication.

Le n° 1 meurt 14h. après l'injection.

Le n° 2 — 23h. — —

Le n° 3 — 4h. 15' — —

N° II.

ACTION DES CULTURES DU MICROBE DU HOG-CHOLÉRA, FAITES DANS LE SÉRUM.

CULTURES SUR LE SÉRUM DES LAPINS VACCINÉS				CULTURES SUR LE SÉRUM NORMAL		
1	0,25 <sup>cc</sup> sous la peau du côté	mort en une semaine	Poids du cadavre 1585	0,25 <sup>cc</sup> sous la peau du côté	mort en 24 heures	Poids du cadavre 1635
2	0,5 <sup>cc</sup> sous la peau de l'oreille	mort en 178 heures	1560	0,5 <sup>cc</sup> sous la peau de l'oreille	mort en 29 h. 30'	1498
3	0,5 <sup>cc</sup> sous la peau du côté	mort en 148 heures	1970			
4	0,5 <sup>cc</sup> sous la peau du côté	mort en 15 jours	1440			
5	1 <sup>cc</sup> dans la veine	mort en 78 heures	1375			
6	0,5 <sup>cc</sup> dans la veine	mort en 104 heures	1670			
7	0,33 <sup>cc</sup> dans la veine	mort en 127 heures	1390	0,33 dans la veine	mort en 8 heures	1745

## N° III.

EXPÉRIENCES COMPARATIVES SUR L'ACTION DES CULTURES DANS LE SÉRUM DES LAPINS, ENTIÈRES ET DÉBARRASSÉES DE CE SÉRUM.

1. Un lapin reçoit dans la veine auriculaire le résidu du filtre, après filtration et lavage, de 2 c. c. de culture dans le sérum d'un lapin vacciné.

Un second lapin reçoit une injection intraveineuse de 2 c. c. de la même culture telle quelle (non filtrée). Le premier meurt du hog-choléra en moins de 18 heures (poids du cadavre 1,750 grammes), le second en 108 heures (poids du cadavre 1,580).

2. Un lapin reçoit dans la veine auriculaire le résidu du filtre d'un c. c. de culture dans le sérum d'un lapin vacciné ; un second reçoit 1 c. c. de la même culture non filtrée. (La culture est âgée de 24 heures.) Le premier lapin meurt en 29 heures (poids du cadavre 1,635), le second en 244 heures.

3. Un lapin est injecté dans la veine de l'oreille avec le résidu de 2 c. c. d'une culture (âgée de 48 heures). Il meurt à peu près en 40 heures (poids du cadavre 1,480). Un second lapin, inoculé avec 2 c. c. de la même culture entière, meurt en 85 heures (poids du cadavre 1,285 grammes).

4. Un lapin reçoit dans la veine auriculaire le résidu de 2 c. c. d'une culture dans le sérum d'un lapin ayant résisté au hog-choléra, grâce au traitement avec le sérum préventif. Un second lapin reçoit dans le même endroit 2 c. c. de la même culture non filtrée. Le premier meurt en 30 heures (poids du cadavre 1,290), le second en 24 heures (poids du cadavre 1,740 grammes).

## N° IV.

ACTION DES CULTURES DANS LE SÉRUM, CHAUFFÉES PENDANT UNE HEURE A 58°.

## 1. Température dans le rectum.

	11 h. m. avant l'injection	11 h. 45'	11 h. 50'	12 h. 45'	1 h. 45'	2 h. 25' a. m.	4 h. a. m.	5 h. 15' soir.	6 h. 30' soir.
Lapin, pesant 875 gr., inoculé avec la culture sur sérum vacciné.	39,3	Injection dans la veine.	39,2	39,2	38,7	39,0	39,7	39,6	39,4
Lapin, pesant 805 gr., inoculé avec la culture sur sérum normal.	39,7		39,5	40,0	40,2	40,7	40,6	40,0	39,7

Les deux lapins ont reçu 2 c. c. de culture stérilisée.



## 2. Température dans le rectum.

7 FÉVRIER 1892								8 FEVR.
	10 h. m.	10 h. 30' m.	11 h. 25' m.	4 h. 30' a. m.	3 h. s.	5 h. s.	8 h. s.	10 h. 30' m.
Lapin, pesant 1100 gr., inoculé avec la culture sur du sérum vacciné.	39,2	Injections intra-veineuses des cultures	39,7	41,0	40,3	40,1	40,6	39,3
Lapin de 800 grammes, inoculé avec la culture sur du sérum normal.	39,3		39,8	39,5	40,1	40,2	40,3	38,8

Les deux lapins ont reçu 0,4 c. c. de culture pour 400 grammes de poids (le premier 4,4 c. c. et le second 3,3 c. c.).

## N° V.

## VIRULENCE DES CULTURES DU HOG-CHOLÉRA DANS LE LIQUIDE DE L'ŒDÈME.

1. 0,25 c. c. de culture dans le liquide de l'œdème d'un lapin vacciné, injectés dans la veine d'un lapin. Mort du hog-choléra aigu en un peu plus de 12 heures. Poids du cadavre 1,730 grammes.

0,25 c. c. de culture dans le liquide de l'œdème d'un lapin non vacciné, injectés dans la veine d'un lapin. Mort en 12 heures. Poids du cadavre 1,970 grammes.

2. Quelques gouttes de culture dans l'œdème d'un vacciné sont injectées dans l'œil d'un lapin neuf. Mort du hog-choléra aigu en 13 heures 30 minutes. Poids du cadavre 1,967 grammes.

La même injection avec une culture dans l'œdème d'un témoin à un autre lapin neuf. Mort en 10 heures 45'. Poids du cadavre 1,722 grammes.

3. 2 c. c. de sang de pigeon (mort du hog-choléra) additionnés d'un c. c. de liquide de l'œdème d'un lapin vacciné sont injectés sous la peau d'un lapin. Mort en 49 heures 30'. Poids du cadavre 1,735 grammes.

Le lapin témoin reçoit 0,2 c. c. du même sang sous la peau. Mort en 23 heures 30'. Poids du cadavre 1,685 grammes.

4. Un lapin neuf reçoit dans la veine 0,5 c. c. de culture dans le liquide de l'œdème d'un vacciné. Mort du hog-choléra aigu en 13<sup>h</sup> 25'.

Le témoin est inoculé dans la veine avec 0,5 c. c. de culture dans le liquide de l'œdème d'un lapin non vacciné. Mort en 10 heures 30 minutes.

## N° VI.

## ACTION PRÉVENTIVE DU SÉRUM DES LAPINS VACCINÉS.

LAPINS TRAITÉS PAR LE SÉRUM DES LAPINS VACCINÉS				LAPINS TÉMOINS non traités.	
Quantité du sérum préventif et endroit de l'injection.	Inoculation du sang virulent.	Résultat du traitement.	Poids du cadavre.	Résultat de l'injection du virus.	Poids du cadavre.
4,5 <sup>cc</sup> sous la peau.	0,4 <sup>cc</sup> de sang de pigeon dans le même endroit.	Guérison.		Mort en 31 heures	1670
3 <sup>cc</sup> dans la veine auriculaire.	0,42 <sup>cc</sup> de sang de lapin, sous la peau.	Guérison.		Mort en 46 heures	4295
7 <sup>cc</sup> sérum dans la veine.	0,42 <sup>cc</sup> de sang de pigeon sous la peau.	Mort en 249 heures.	4495	Mort en 7 heures	
0,5 <sup>cc</sup> sous la peau.	0,1 <sup>cc</sup> de sang de pigeon sous la peau.	Guérison.		Mort en 9 jours	4530
1 <sup>cc</sup> sous la peau.	Id.	Guérison.			
4,5 <sup>cc</sup> dans la veine.	0,4 <sup>cc</sup> de sang viru- lent, injecté sous la peau 41 jours après le sérum.	Guérison.		Mort en 132 heures	2950
1,25 <sup>cc</sup> sous la peau.	0,45 <sup>cc</sup> de sang de lapin sous la peau.	Guérison.		Mort en 49 heures	4680
2 <sup>cc</sup> sous la peau du côté droit.	3/8 <sup>cc</sup> de sang sous la peau du côté gauche.	Guérison.		Mort en 51 heures	4345
1 <sup>cc</sup> sous la peau du côté gauche.	3/8 <sup>cc</sup> de sang sous la peau du côté gauche.	Guérison.			
3,5 <sup>cc</sup> dans la veine.	0,5 <sup>cc</sup> de sang de pigeon dans la veine.	Mort en 40-45 h.	4830	Mort en 5 heures 20'	
3 <sup>cc</sup> du sérum d'un lapin guéri, dans la veine.	0,45 <sup>cc</sup> de sang sous la peau.	Mort en 85 heures	4580	Mort en 85 heures	4560



## N° VII.

VIRULENCE DE L'EXSUDAT DES LAPINS VACCINÉS ET DES LAPINS TRAITÉS  
PAR LE SÉRUM PRÉVENTIF.

NATURE ET PROVENANCE DE L'EXSUDAT.	ENDROIT de L'INOCULATION.	RÉSULTAT de l'inoculation à des lapins neufs.	POIDS du CADAVRE.
Pus retiré 4 jours après l'inoculation sous-cutanée d'un lapin vacciné.	Veine.	Mort en moins de 21 heures.	1477
Exsudat liquide retiré 48 h. après l'inoculation d'un vacciné.	Veine.	Mort en 40 heures.	1635
Pus épais d'un abcès sous cutané d'un lapin vacciné, retiré 17 jours après l'inoculation.	Veine.	Mort en 29 h. 20'.	1800
Exsudat liquide retiré 10 jours après l'inoculation.	Veine.	Mort en 10 jours et 8 heures.	1453
Pus retiré le 18 <sup>e</sup> jour d'un abcès sous-cutané d'un lapin vacciné.	Veine.	Survie pendant 41 jours.	
Le même pus après un séjour de 24 h. dans l'étuve à 38°.	Veine.	Mort en 108 heures.	1535
Exsudat de l'œil, retiré 24 h. après l'inoculation d'un lapin vacciné.	Chambre antérieure de l'œil.	Mort en moins de 24 heures.	1595
Exsudat du même lapin, retiré 3 jours après l'inoculation de l'œil.	Veine.	Mort en 14 heures.	1775
Exsudat du même lapin, retiré 5 jours après l'inoculation de l'œil.	Veine.	Mort en moins de 24 heures.	1870
Pus âgé de 14 jours d'un lapin guéri par le sérum préventif.	Veine.	Mort en moins de 20 heures.	1595
Exsudat sous-cutané d'un lapin traité, retiré 29 heures après l'inoculation.	Sous la peau de l'oreille.	Mort en 15 heures.	1645
Même exsudat, retiré 48 h. après l'inoculation.	Sous la peau de l'oreille.	Mort en 51 h. 30'.	1742

## N° VIII.

## INJECTION DU SANG TOXIQUE DANS LA VEINE DES LAPINS VACCINÉS.

1. Un lapin, vacciné depuis novembre 1,891 avec 4,25 c. c. de sang stérilisé, et éprouvé à trois reprises par le virus mortel, reçoit le 12 février 1892, 2,5 c. c. de sang toxique (chauffé 1 heure à 58°). Le poids du lapin au moment de l'injection est de 2,070 grammes. Son sérum exerce une propriété préventive considérable.

Bientôt après l'injection des toxines, le lapin tombe malade et meurt (avec des symptômes caractéristiques de l'intoxication par le hog-choléra), en 3 heures et 53 minutes.

Un lapin témoin n° 1 de 1,930 grammes, reçoit 3 c. c. du même sang toxique. Il meurt à peu près 12 heures après l'injection.

Un second témoin n° 2, de 1,800 grammes, reçoit 2 c. c. du même sang toxique. Il ne meurt, d'une intoxication chronique, que 16 jours après l'injection.

La lapin vacciné, qui avait résisté à trois épreuves, était cependant amaigri.

2. Un lapin vacciné avec du sang chauffé à 58°, et éprouvé par un virus mortel, reçoit deux mois après l'inoculation de l'épreuve, 4 c. c. de sang chauffé une heure à 58°, mais pas très toxique. Son poids avant l'injection toxique est de 2,675 grammes. Son sérum est préventif. N'ayant pas de lapin neuf du même poids, je prends comme témoin un lapin de 1,940 grammes, auquel j'injecte 3 c. c. du même sang toxique. Le second témoin de 1,445 grammes reçoit 2,5 c. c. de ce sang.

Tous les trois lapins meurent avec les signes caractéristiques d'intoxication par le hog-choléra. Le lapin vacciné meurt en 1 heure et 35 minutes; le premier témoin en 22 heures et 10 minutes; le second témoin en 1 heure et 45 minutes.

3. Une lapine, pesant au moment de l'injection toxique, 3,770 grammes a été vaccinée dans l'hiver 1891. Eprouvée le 17 janvier 1892 avec un virus mortel, elle s'est bien remise et a considérablement augmenté de poids. Elle a mis bas deux petits, et à deux reprises fournit du sérum préventif très efficace.

L'injection de 6 c. c. de sang toxique (en raison de 0,16 c. c. par 100 grammes de poids de l'animal) a été faite 3 mois et 18 jours après l'inoculation de l'épreuve.

Un lapin témoin de 1,950 grammes a reçu 3,75 c. c. du même sang toxique (à raison de 0,19 c. c. par 100 grammes de poids). Le sang, comme toujours, a été chauffé une heure à 58°.

La lapine vaccinée est tombée gravement malade bientôt après l'injection toxique et présente tous les symptômes d'intoxication par les toxines du hog-choléra. Elle est morte 1 heure 20 minutes après l'injection. A l'autopsie les organes ont été trouvés à l'état normal, un peu hyperémiés.

Le lapin témoin est mort 27 heures après l'intoxication.



N° IX.

ACTION DU SANG TOXIQUE STÉRILISÉ SUR LE LAPIN VACCINÉ.

1. Un lapin vacciné et très réfractaire, en parfaite santé, reçoit dans la veine auriculaire 2,5 c. c. de sang toxique, chauffé une heure à 60°. Poids du lapin vacciné 2,245 grammes

Un lapin neuf (témoin), de 1,705 grammes, reçoit 2,5 c. c. du même sang toxique.

*Températures dans le rectum.*

	Avant l'injection du sang 10 h. 25 m.	10 h. 30' du matin	11 h. 20 m.	Midi.	1 h. 30' a. m.	3 h. 30' a. m.	5 h. du soir.	11 h. du matin.
Lapin vacciné	39,5	Injection par 2 <sup>de</sup> de sang toxique	40,1	40,6	41,0	39,6	39,4	39,3
Lapin neuf	39,5		40,0	40,6	41,5	39,9	39,3	39,4

Les deux lapins ont très bien résisté à l'injection toxique.

2. Huit jours après l'expérience précédente, le même lapin vacciné, ainsi qu'un lapin neuf (témoin) reçoivent 2 c. c. de toxines (chauffées une heure à 58°) dans la veine de l'oreille. Le lapin vacciné pèse 2,320 grammes, le témoin 1,670 grammes.

*Températures dans le rectum.*

	10 h. 20' avant l'injection	10 h. 30'	11 h. 25' m.	1 h. 25' a. m.	3 h. 30'	7 h. 20' du soir.	10 h. du matin.
Lapin vacciné	39,9	Injection par 2 <sup>de</sup> de toxines	41,2	41,8	41,0	41,0	39,7
Lapin neuf	39,3		40,3	40,9	41,3	41,4	39,5

Le deux lapins ont très bien supporté l'injection du sang toxique, qui cette fois était peu actif.

3. Le même lapin vacciné, qui a servi dans les deux expériences précédentes, a reçu, 11 jours après la dernière injection, 1 c. c. de sang toxique sous la peau du côté. Le sang est si peu toxique que 3 c. c. n'ont pas amené la mort d'un lapin neuf.

Un lapin neuf (témoin) reçoit 1 c. c. du même sang sous la peau du côté.

*Températures dans le rectum.*

	2 h. 30' AVANT l'injection.	2 h. 35' Injection sous-cutanée par 1 <sup>re</sup> cc de sang.	3 h. 45' a. m.	4 h. 45' s.	6 h. 30' s.	9 h. 45' s.	10 h. matin.	5 h. 30' s.	9 h. 45' matin.
Lapin vacciné.	40,0		39,8	41,1	41,3	40,7	40,3	40,4	39,8
Lapin neuf.	38,8		39,3	39,3	40,0	40,5	40,0	40,2	39,7

*Nombre de leucocytes dans le sang, par c. c.*

	AVANT L'INJECTION du sang toxique.	3 H. 15' APRÈS L'INJECTION du sang toxique
Lapin vacciné.....	31,000	91,000
Lapin neuf.....	17,000	14,500

# LE

## CHIMIOTAXISME DES LEUCOCYTES

### ET L'IMMUNITÉ

PAR JEAN MASSART, ASSISTANT A L'INSTITUT BOTANIQUE.

(Université de Bruxelles.)

---

Certains produits microbiens agissent sur le chimiotaxisme des phagocytes du sang, et l'on s'était accoutumé à l'idée que la généralité des microbes, ou tout au moins les espèces pathogènes, produisent des substances qui attirent les leucocytes. Pour rechercher si les races inégalement virulentes d'une même bactérie attirent aussi inégalement les globules blancs, nous avons repris la méthode qui nous avait déjà servi antérieurement.

Les microbes sont cultivés dans le liquide suivant :

Eau. . . . .	1,000
Glycose. . . . .	10
Peptone. . . . .	20
Phosphate de potassium . . . . .	1
Sulfate de magnésium. . . . .	0,5
Chlorure de sodium. . . . .	5
Potasse jusqu'à faible réaction alcaline.	

Après que les microorganismes se sont développés pendant quelques jours, les cultures sont mises dans des tubes capillaires fermés à l'une de leurs extrémités ; ceux-ci sont introduits dans la cavité péritonéale du lapin, du cobaye ou du pigeon, où ils restent 7 heures. Les leucocytes, lorsqu'ils pénètrent dans les tubes, forment près de l'orifice une bourre très dense ; la longueur de cet amas est évidemment en rapport avec l'attraction que le liquide contenu dans le tube exerce sur les leucocytes ambiants. Les cultures que l'on veut comparer sont introduites



dans un même animal : on évite ainsi les causes d'erreur provenant de différences individuelles.

Dans presque tous les cas, *les microbes peu virulents attirent plus fortement que les virus très actifs.* (Exp. I à X.) Nous reviendrons plus loin sur les bacilles de la diphtérie (exp. XII) qui ont donné des résultats précisément inverses.

Les agents infectieux que nous avons étudiés sont des plus divers : ils comprennent d'abord les vaccins pasteurien et la race virulente des mêmes espèces (exp. I, II, V, VI), puis des microbes plus ou moins atténués par la conservation à l'air (exp. VII à IX); dans ces deux cas nous avons des germes peu pathogènes qui dérivent d'une race active. Nous avons aussi essayé des espèces chez lesquelles, par divers artifices, on transformait une race peu virulente en d'autres plus nocives : c'est ainsi que nous avons comparé le premier vaccin charbonneux avec des cultures beaucoup plus pathogènes obtenues par M<sup>lle</sup> Tsiklinski, au laboratoire de M. Metchnikoff, en traitant de différentes façons ce premier vaccin (exp. III et IV); nous avons également étudié deux bacilles pyocyaniques de M. Gessard : l'un à peine virulent, le second provenant de celui-ci, mais à nocivité beaucoup plus prononcée. Enfin, dans un travail publié dans ce même fascicule des *Annales*, M. Jules Bordet annonce qu'il est arrivé aux mêmes résultats que nous par l'étude du vibron de Metchnikoff.

La différence d'action se manifeste aussi bien avec les cultures vivantes qu'avec celles qui sont stérilisées par la chaleur. (Comparer les exp. I et II, V et XV, VIII et IX.)

A quoi tient cette inégalité d'action sur le chimiotaxisme des leucocytes? Elle est due ou bien à ce que les microbes très pathogènes ne produisent guère de substances qui attirent les globules blancs, ou bien à ce qu'ils forment en outre des matières répulsives. La première hypothèse est inexacte : en effet, si les cultures virulentes ne renfermaient qu'en très petite quantité les produits attractifs, elles n'exerceraient pas davantage une attraction sur les leucocytes des animaux réfractaires au microbe; or l'expérience démontre qu'il en est autrement. (Comparer les exp. II, XIII et XIX.) La preuve directe est du reste facile à fournir : si dans les cultures pathogènes il n'y avait que très peu de substances attirantes, la dilution les rendrait encore moins

actives; or, on constate que la culture de *hog-choléra* virulent, qui attire peu de leucocytes, les attire au contraire très énergiquement lorsqu'elle est diluée de son volume de solution de chlorure de sodium à 0,63 0/0. (Exp. XI.)

*Dans les cultures des germes virulents, il y a donc, à côté de la substance attirante, quelque chose qui repousse les leucocytes.* Quand on dilue le liquide, la première action devient prépondérante et l'attraction se manifeste. La culture pathogène renferme-t-elle une substance distincte qui fasse fuir les phagocytes, ou bien le microbe virulent sécrète-t-il la matière attirante en quantité telle que son abondance même est une cause de répulsion? Il ne nous est pas possible de trancher maintenant la question, mais nous tenons à faire remarquer que la seconde hypothèse n'a rien d'in vraisemblable : les études faites sur les organismes inférieurs montrent que certaines solutions les attirent quand elles sont très diluées, tandis qu'elles les repoussent énergiquement quand elles sont plus concentrées; ainsi les Flagellates de l'espèce *Tetramitus rostratus* s'amassent en grand nombre dans une solution au vingt-millième de carbonate de potassium, et évitent la solution au millième.

La répulsion qu'une culture exerce sur les leucocytes est-elle en rapport avec sa toxicité? La comparaison des expériences II et IX permet de rejeter cette opinion : les globules blancs du lapin évitent soigneusement la culture de charbon virulent qui ne renferme guère de toxines, tandis qu'ils se dirigent en quantité notable vers la culture de *hog-choléra* virulent qui est pourtant très toxique. Les expériences faites avec le bacille diphtéritique sont également de nature à faire repousser cette idée (exp. XII); *le microbe de la diphtérie attire les phagocytes d'autant plus qu'il est plus virulent*; et ce qui prouve bien que la propriété répulsive est indépendante de la toxicité, c'est que la culture vivante, très active, attire autant que la culture chauffée pendant une heure entre 60° et 70°, et qui a perdu toute sa toxicité. *Il y a donc des substances spéciales chimiotaxiques qui ne sont pas identiques avec les substances toxiques.*

Nous disions plus haut que, chez les animaux réfractaires, les globules blancs sont attirés autant ou presque autant vers les microbes virulents que vers les microbes atténués. Ce fait est important. Nous avons expérimenté avec des lapins immunisés

contre le charbon (exp. XIII), contre le rouget du porc (XIV), contre le *hog-choléra* (exp. XVII) et avec un cobaye vacciné contre le vibrion de Metchnikoff (exp. XVI). Nous avons aussi étudié le chimiotaxisme des leucocytes du cobaye pour le *hog-choléra* (exp. XVIII) et du pigeon pour le charbon (exp. XIX); ces deux animaux sont peu réceptifs pour les microbes que nous avons essayés. On constate dans tous les cas que le nombre des leucocytes qui pénètrent dans les tubes augmente dans de très notables proportions, et que la différence qui existe chez les animaux neufs entre l'attraction des virus forts et celle des virus atténués tend à s'effacer. Il résulte de ces expériences que les leucocytes des animaux vaccinés et ceux des animaux naturellement réfractaires sont peu sensibles à l'agent répulsif des microbes, tout en restant excitables par les substances attractives : aussi les voit-on se diriger en masse vers les microbes les plus virulents.

Le résultat est le même chez les animaux vaccinés par des inoculations de virus atténués (charbon et rouget), et chez ceux qui sont immunisés par les substances solubles (vibrion de Metchnikoff et *hog-choléra*) : la vaccination opère, dans l'un comme dans l'autre cas, une *éducation des leucocytes*; ceux-ci s'adaptent à se diriger vers les microbes virulents. Ces résultats expliquent comment la phagocytose peut intervenir dans les maladies dont l'agent infectieux repousse les leucocytes des organismes non vaccinés.

L'expérience XV montre que les leucocytes d'un lapin vacciné contre le rouget se trouvent, vis-à-vis du bacille charbonneux, dans les mêmes conditions d'infériorité que ceux d'un lapin neuf.

(Travail fait à l'Institut Pasteur et à l'Institut botanique. Université de Bruxelles.)

---

## EXPÉRIENCES

---

I. (15. XII. 94). — Un lapin reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

Charbon virulent. Quelques rares leucocytes sont entrés.

— 2° vaccin. Bourre assez longue de leucocytes.

— 1<sup>er</sup> vaccin. Bourre très épaisse, très longue.



II. (14. IV. 92). — Un lapin reçoit des tubes avec des cultures vivantes de

Charbon virulent. Rien n'est entré.

— 1<sup>er</sup> vaccin. Attraction modérée.

III. (23. IV. 92). — Un lapin reçoit des tubes avec des cultures vivantes de

Charbon 1<sup>er</sup> vaccin. Attraction forte.

— —  $\alpha$ . Bourre de leucocytes 6 fois moins longue.

— —  $\beta$ . Bourre de leucocytes 4 fois moins longue que dans le 1<sup>er</sup> vaccin.

IV. (23. IV. 92). — Un cobaye reçoit des tubes contenant des cultures vivantes de

Charbon 1<sup>er</sup> vaccin. Attraction modérée.

— —  $\alpha$ . Attraction un peu inférieure à la précédente.

— —  $\beta$ . Attraction inférieure de deux tiers.

Le charbon 1<sup>er</sup> vaccin tue le cobaye en 8 jours, et ne fait rien au lapin. Les cultures  $\alpha$  et  $\beta$  tuent le lapin en 3 à 5 jours et le cobaye en 75 heures. Ces cultures ont été mises à notre disposition par M<sup>lle</sup> Tsiklinski.

V. (15. XII. 91). — Un lapin reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

Rouget du porc virulent. Attraction modérée.

— — 1<sup>er</sup> vaccin. Attraction beaucoup plus forte.

VI. (15. XII. 91). — Un lapin reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

Choléra des poules virulent. Attraction modérée.

— — 1<sup>er</sup> vaccin. Attraction plus forte.

VII. (18. XII. 91). — Un cobaye reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

Vibron de Metchnikoff A. Attraction faible.

— — B. —

— — C. —

— — D. Attraction très forte.

Les cultures A, B et C tuent le cobaye en un jour. La culture D est sans action. (Injection de 0,5 c. c. dans les muscles de la cuisse.)

VIII. (19. XII. 91). — Un lapin reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

Hog-choléra A. Attraction faible.

— — B. Attraction au moins double.

La culture A tue le lapin en moins de 24 heures; la culture B le tue en 2 jours. (Injection de 0,5 c. c. dans la veine de l'oreille.)

IX. (19. IV. 92). — Un lapin reçoit des tubes contenant des cultures vivantes de

*Hog-choléra* A. Attraction faible.

— C. Attraction au moins double.

— D. — — — — —

A la suite de l'injection de 4 c. c. de culture dans les muscles de la cuisse, le microbe A tue le lapin en 2 jours, les microbes C et D ne le font pas succomber.

Les bactéries qui ont servi aux expériences VII, VIII et IX nous ont été fournies par M. Metchnikoff.

X. (48. XII. 94). — Un lapin reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

Bac. pyocyanique A. Attraction faible.

— B. — double de la précédente.

La culture A tue le lapin en 2 ou 3 jours; la culture B le tue en une quarantaine de jours. (Injection de 0,5 c. c. dans la veine de l'oreille.)

Ces bacilles nous ont été fournis par M. Gessard.

XI. (23. XII. 94). — Un lapin reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

*Hog-choléra* B. — Attraction très forte.

— Diluée de son volume de ClNa  
à 0,63 0/0. — Attraction très forte.

— A. — — Attraction égale au tiers  
des précédentes.

— A. Diluée de son volume de ClNa  
à 0,63 0/0. — Attraction égale aux deux  
premières.

Pour la virulence de ces cultures, voir exp. VIII.

XII. (9. II. 92). — Un cobaye reçoit des tubes contenant des cultures de

Diphthérie A. Vivante. Attraction forte.

— A. Chauffée pendant une heure  
entre 60° et 70°. — Attraction également forte.

— B. Vivante. — Attraction faible (1/3 des  
précédentes).

La culture A tue le cobaye à la dose 0,2 c. c.; la culture B produit à peine un léger œdème à la dose de 1 à 2 c. c. (Injection sous-cutanée.)

Ces cultures nous ont été remises par M. Roux.

XIII. (14. IV. 92). — Un lapin vacciné contre le charbon reçoit des tubes contenant des cultures vivantes de

Charbon virulent. Attraction modérée.

— 1<sup>er</sup> vaccin. Attraction forte.

XIV. (4. III. 92). — Un lapin vacciné contre le rouget reçoit des tubes contenant des cultures vivantes de

Rouget du porc virulent. Attraction forte.

— 2<sup>e</sup> vaccin. —

— 4<sup>er</sup> vaccin. —

XV. (4. III. 92). — Un lapin vacciné contre le rouget reçoit des tubes contenant des cultures vivantes de

Charbon virulent. Attraction presque nulle.

— 2<sup>e</sup> vaccin. — modérée.

— 1<sup>er</sup> vaccin. — forte.

XVI. (22. XII. 92). — Un cobaye immunisé contre le vibron de Metchnikoff reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

Vibron de Metchnikoff A. Attraction très forte.

— D. —

Pour la virulence de ces microbes, voir exp. VII.

XVII. (19. IV. 92). — Un lapin vacciné contre le *hog-choléra* reçoit des tubes contenant des cultures vivantes de

*Hog-choléra* A. Attraction très forte.

— C. —

— D. —

Pour la virulence de ces microbes, voir exp. IX.

XVIII. (18. XII. 91). — Un cobaye reçoit des tubes contenant des cultures chauffées à 100° de

*Hog-choléra* A. Attraction très forte.

— B. —

Pour la virulence de ces bactéries, voir exp. VIII.

XIX. (4. III. 92). — Un pigeon reçoit des tubes contenant des cultures vivantes de

Charbon 1<sup>er</sup> vaccin. Attraction forte.

— 2<sup>e</sup> vaccin. —

— virulent. Attraction modérée.

---



# ADAPTATION DES VIRUS AUX ORGANISMES VACCINÉS

PAR M. JULES BORDET.

Étudiant en médecine.

---

Les bactéries possèdent, à un haut degré, le pouvoir de se transformer. Elles se modifient parfois quant à leurs formes, souvent quant à leurs fonctions. La virulence est une propriété essentiellement changeante, qui diminue ou s'exagère suivant les conditions où le germe pathogène est placé.

Le *vibron de Metchnikoff*, tel que M. Gamaléia l'a décrit, possède sur certaines espèces une activité très grande. Une quantité assez faible de culture tue les cobayes à coup sûr. Les bouillons stérilisés où ce vibron a prospéré sont aussi très toxiques pour ces animaux, et amènent la mort dès qu'on atteint la dose moyenne de 2 c. c. pour 100 grammes de poids vivant.

Les cobayes, qui succombent si facilement à l'action de ce virus, sont immunisés d'une façon certaine si on leur injecte, à une ou deux reprises, des quantités suffisantes (1/2 à 1 c. c. pour 100 grammes) de culture dépourvue de microbes par la filtration ou le séjour à l'autoclave. La vaccination ainsi obtenue est régulière et constante.

Cependant M. Metchnikoff nous a montré que si on inocule à un cobaye ainsi préservé un peu d'une culture virulente contenant des vibrions, ceux-ci ne sont pas immédiatement détruits. Ils ne périssent qu'au bout d'un temps assez long, 60 à 90 heures, quand les microbes sont injectés sous la peau, 6 à 7 jours si on les a fait pénétrer dans la chambre antérieure de l'œil. Il se fait cependant, chez cet animal vacciné, au point de l'inoculation, une émigration de leucocytes notable, très supérieure à celle que l'on observe chez l'animal que rien n'a mis à l'abri de la maladie. Non seulement les vibrions restent en vie, mais encore ils ne perdent rien de leurs propriétés nocives. Chose curieuse, leur virulence s'accroît au contraire d'une façon très marquée. Par ce microbe ainsi modifié, M. Metchnikoff est parvenu à tuer un cobaye en 6 à 7 heures, alors que la bactérie normale n'amène la mort qu'au bout de 20 heures environ.

Quelle est la cause de cette exagération si manifeste du pou-

voir pathogène ? En vertu de quelle modification le virus acquiert-il cette puissante activité ? C'est ce que nous avons essayé d'éclaircir.

Nous conférons à un cobaye pesant 550 grammes une solide immunité par une injection de 3,5 c. c. de culture stérilisée de *Vibrio Metchnikovii*, suivie à 8 jours d'intervalle d'une inoculation de 1/2 c. c. de culture du microbe vivant. Dix jours plus tard, alors que l'animal est bien rétabli, on lui introduit sous la peau du ventre 1 c. c. de culture active. Vingt heures après, on retire une petite quantité de l'exsudat formé, et on l'ensemence dans du bouillon de veau additionné de 1 0/0 de peptone.

Lorsque le développement s'est fait, on prélève de ce dernier liquide un centimètre cube que l'on fait pénétrer sous la peau d'un second cobaye vacciné comme le précédent. Vingt-sept heures après l'inoculation, on extrait comme la première fois une goutte de l'exsudat que l'onensemence de même.

Ce second cobaye, bien qu'il fût auparavant très bien portant, souffre beaucoup plus que le premier. Le tégument se nécrose sur une grande étendue au point de l'injection ; les yeux sont à demi fermés, l'animal est inerte, l'abattement est manifeste, ce qui est conforme aux expériences de M. Metchnikoff, d'après lesquelles le vibron qui a séjourné 20 heures sous la peau d'un cobaye vacciné devient plus dangereux.

Nous voici en possession de trois cultures différentes de *Vibrio Metchnikovii* : une culture du virus modifié par un passage dans un organisme immunisé ; une culture du même microbe modifié par deux passages ; une culture du vibron dont les générations successives ont vécu pendant quelques mois dans des tubes de gélose. Ajoutons-y une quatrième, obtenue par le passage du vibron dans un cobaye non vacciné. Cette dernière sera donc une culture de vibrions normaux, mais dont la virulence toute fraîche n'aura subi aucune atteinte du fait d'un séjour prolongé dans des milieux artificiels.

Le renforcement des microbes, que nous appellerons « modifiés ou très virulents », ne peut se rattacher, dans nos idées actuelles, qu'aux deux causes suivantes : ou bien leur pouvoir chimiotaxique vis-à-vis des leucocytes a diminué, ce qui leur permet d'échapper plus facilement à l'action destructive de ces cellules, et par conséquent de se développer et de se multiplier

avec une sécurité plus grande; ou bien ils secrètent des produits toxiques plus abondants ou plus dangereux qu'auparavant.

Ces deux causes peuvent d'ailleurs agir concurremment. Il nous suffira donc de comparer d'une part l'influence chimiotaxique du microbe primitif ou normal avec celle du microbe « modifié », et d'autre part les propriétés toxiques des substances formées par l'une et par l'autre de ces deux races de vibrions.

EXPÉRIENCE I. — On sème les quatre différents microbes dans un liquide spécial constituant un bon milieu de culture, déjà employé par MM. J. Massart et Ch. Bordet, et ne possédant par lui-même aucune espèce d'action chimiotaxique.

Après trois jours de développement à 32°, on remplit de ces cultures virulentes des tubes capillaires que l'on place par groupes d'une dizaine dans la cavité péritonéale d'un cobaye neuf. On les en retire au bout de huit heures, et on constate que les colonnes de leucocytes qui ont pénétré à l'intérieur des tubes sont de longueurs diverses. Pour le vibrion normal cultivé depuis plusieurs mois dans des tubes de gélose, cette longueur est la même que pour le vibrion normal sortant des tissus d'un cobaye non vacciné. Pour le vibrion modifié par un passage dans un cobaye vacciné, elle est égale à la moitié de la précédente. Pour le microbe modifié par deux passages, elle est très légèrement inférieure à la moitié.

La même expérience a été faite en employant des cultures stérilisées à 115°. Nous n'avons remarqué aucune différence dans l'afflux des leucocytes.

Nous voyons donc que le pouvoir attractif est notablement plus faible chez les microbes qui ont subi l'action des cobayes immunisés que chez les deux microbes normaux, l'un qui a passé par un cobaye neuf, l'autre qui s'est multiplié longtemps dans des milieux artificiels.

Un fait assez intéressant, c'est qu'il n'y a, entre ces deux derniers vibrions, aucune différence appréciable. Les qualités chimiotaxiques ne se sont pas altérées par le développement dans des tubes de gélose.

Du reste, nous avons constaté, soit dit en passant, que le *Vibrio Metchnikovii* conservé dans de vieilles cultures, au contact de l'air, ne s'atténue guère; une culture datant du 16 décembre



1891, et inoculée le 29 mars 1892 à la dose de 1/2 c. c. à 2 cobayes, les a tués en une vingtaine d'heures. On sait qu'un bon nombre de microbes pathogènes s'atténuent plus rapidement.

Ces expériences nous démontrent encore que le vibrion qui a été soumis à deux passages n'a qu'une infériorité attractive très légère vis-à-vis de celui qui n'en a subi qu'un seul.

Voyons maintenant si, de même que leur pouvoir chimiotaxique, la toxicité des sécrétions bactériennes a changé.

EXPÉRIENCE II. — Un cobaye parfaitement sain, pesant 620 grammes, subit une injection de 6 c. c. de culture très virulente stérilisée. Cette quantité, bien que faible, le tue; il meurt en effet au bout de 60 heures.

L'autopsie ne dénote absolument aucune lésion, sauf de la congestion intestinale.

Un autre cobaye, pesant 450 grammes, reçoit 5,5 c. c. de *Vibrio Metchnikovii* normal, quantité qui, proportionnellement au poids de l'animal, est un peu plus considérable que pour l'animal précédent.

Il n'en souffre pas et reste très bien portant

On le voit, l'accroissement de la toxicité accompagne ici l'abaissement du pouvoir chimiotaxique positif.

Cette faiblesse de la faculté attractive, à quoi est-elle due? Devons-nous en chercher la cause dans une simple diminution en quantité de la substance attirante que le vibrion normal produit abondamment? Se forme-t-il au contraire chez le microbe modifié un principe répulsif dont la proportion est minime ou nulle chez le vibrion primitif? Essayons de répondre à ces questions.

EXPÉRIENCE III. — Nous introduisons, dans la cavité péritonéale d'un cobaye neuf, des tubes capillaires contenant les liquides suivants, préparés au moyen des mêmes milieux de culture que dans l'expérience I:

a, culture du *Vibrio Metchnikovii* normal, stérilisée.

b, culture du *Vibrio Metchnikovii* extrait par ponction de l'exsudat du second cobaye, stérilisée également.

c, mélange à parties égales des deux premiers liquides.

d, mélange à parties égales du liquide b et du milieu nutritif bien stérile, et identique à celui dans lequel les microbes ont été ensemencés.

Nous les laissons huit heures dans le corps de l'animal, puis nous les examinons.

Pour les liquides *a*, *c*, *d*, les colonnes de leucocytes sont égales. Dans les tubes *b*, la longueur de la partie occupée par les leucocytes est moindre de moitié.

L'examen des tubes *d* nous montre que la dilution avec un liquide inerte augmente le pouvoir attractif du *Vibrio Metchnikovii* « modifié », et le rend tout aussi énergique que celui du microbe normal.

Nous pouvons donc écarter l'hypothèse d'après laquelle le vibron en se modifiant perdrait une partie de ses propriétés attirantes par suite d'une moindre abondance de la substance chimiotaxique positive. Il existe donc une influence chimiotaxique négative, qui amoindrit d'une façon considérable l'effet de la matière attractive. L'expérience enseigne que la dilution affaiblit davantage l'action de la première que celle de la seconde.

Rien ne nous prouve que ces substances agissant diversement sur les globules blancs soient nettement distinctes. Il se pourrait qu'il n'y eût pas deux produits chimiquement différents, mais bien un seul et même principe, attirant les leucocytes quand il est étendu, les repoussant quand il est concentré. Cette dernière hypothèse est loin d'être inacceptable : on connaît en effet l'influence profonde qu'exerce la concentration de plusieurs corps sur le sens de la direction qu'ils impriment à certaines cellules sensibles. Nous n'avons pu élucider la question.

Quelle que soit la substance à laquelle cette fonction répulsive est due, elle existe et s'exerce énergiquement chez le vibron modifié ; mais elle se manifeste aussi, à un moindre degré, chez le vibron ordinaire. En effet, le pouvoir attractif des sécrétions de ce dernier s'accroît également, lorsqu'on les dilue. C'est ce qu'un essai en tubes capillaires nous a démontré.

Le vibron soumis à l'action du cobaye immunisé ne conserve pas longtemps, dans les milieux artificiels, cette intensité de ses propriétés répulsives.

EXPÉRIENCE IV. — On compare, au point de vue du chimiotaxisme, par la même méthode des tubes capillaires, le *Vibrio Metchnikovii* cultivé depuis longtemps dans des tubes de gélose, avec le vibron « très virulent » qu'on a repiqué tous les quatre

jours, pendant près d'un mois, dans du bouillon de veau additionné de 1 0/0 de peptone. Des deux côtés, les leucocytes occupent des longueurs égales.

Nous venons de voir que le séjour dans un organisme vacciné imprime au *Vibrio Metchnikovii* certaines modifications : il devient plus toxique et moins attirant. Essayons de comprendre pourquoi ces modifications se produisent.

Lorsque nous injectons des vibrions sous la peau d'un cobaye vacciné, l'émigration des leucocytes ne tarde pas à se faire. Les premiers globules blancs qui arrivent au point d'inoculation se trouvent en présence d'un nombre considérable d'adversaires, dont ils ne peuvent tuer qu'une petite quantité. Ces quelques leucocytes sont attirés de tous côtés par les germes pathogènes. Il suffira que quelques-uns de ces vibrions soient doués d'un pouvoir attractif un peu plus marqué que celui de leurs congénères, pour que les phagocytes se portent de préférence vers eux et s'en emparent. Des différences extrêmement minimes, *presque inappréciables*, auront comme conséquence de prédestiner certaines bactéries à être englobées à bref délai. De même une infériorité, fût-elle très légère, dans la sécrétion de produits toxiques, sera une prédisposition à une destruction rapide.

En un mot les leucocytes tueront d'abord les microbes qui se trouvent dans les conditions de résistance les moins favorables, et la culture inoculée s'épurera, dès le début, des individus formant un peu moins de poison que leurs voisins ou attirant un peu plus les leucocytes.

Pendant ce temps, les vibrions laissés en vie se diviseront et fourniront de nouveaux microbes qui à leur tour seront exposés aux attaques des phagocytes. Ceux-ci supprimeront encore les individus moins armés pour la lutte, et ne respecteront que ceux qui posséderont au plus haut degré les deux caractères signalés ci-dessus. Grâce à cette sélection, les générations nouvelles de microbes, celles qui produiront les cultures essayées dans nos expériences, dériveront pour la plus grande part des microbes qui auront été doués de ces propriétés favorables.

Pour que cette nouvelle race se produise, il faut :

1° Que les leucocytes interviennent d'une façon continue. Lorsqu'ils n'émigrent pas au point d'inoculation, la sélection



ne s'opère pas, et les microbes n'augmentent pas en activité. Quand on injecte des vibrions de Metchnikoff virulents sous la peau d'un cobaye neuf, l'afflux des leucocytes est très faible, et le vibron obtenu par ce passage n'a pas de caractères spéciaux. Si, au contraire, on inocule à un cobaye neuf le *Vibrio Metchnikovii* atténué, attirant notablement les leucocytes, la sélection se fait, et le microbe agagné en virulence. Les leucocytes sont les agents actifs de la sélection, ce sont eux qui, éliminant les microbes les moins résistants, épargnant quelque temps les autres, et laissant ceux-ci se multiplier, produisent le renforcement observé;

2° Il faut que l'afflux des leucocytes se fasse avec mesure, d'une façon ménagée et progressive. Il faut que la sélection ait le temps de se faire. C'est dans la région où l'afflux des leucocytes se fait d'une manière graduelle, sans hâte, par exemple dans la chambre antérieure de l'œil, que le *Vibrio Metchnikovii*, inoculé au cobaye immunisé, acquiert la plus extrême virulence. On remarque, en lisant le travail de M. Metchnikoff, que le vibron obtenu de la sorte est le plus actif, et qu'il tue un cobaye neuf en 6 heures.

Un autre fait, fourni par M. Metchnikoff, est à rapprocher de ce dernier. Le charbon est plus funeste pour le pigeon quand l'injection est faite dans l'humeur aqueuse que lorsque la bactérie pénètre par une autre voie.

Rappelons aussi que, pour plusieurs microbes, les inoculations dans le torrent circulatoire sont beaucoup moins dangereuses que celles que l'on pratique dans le tissu conjonctif.

Nous terminons ici nos considérations relatives au *Vibrio Metchnikovii*. Nous les reprendrons plus tard.

D'autres microbes, notamment le rouget du porc, ne gardent pas toujours la même virulence quand on les fait passer dans les tissus d'animaux vaccinés, ou plus ou moins réfractaires. De nouvelles recherches vont être entreprises pour nous faire connaître si ces virus, placés dans des conditions diverses, se modifient, notamment au point de vue du pouvoir chimiotaxique et de la toxicité des sécrétions.

Le présent travail a été fait à l'Institut botanique de Bruxelles. Nous exprimons à M. le professeur Errera toute notre reconnaissance pour les précieux conseils qu'il nous a donnés.

---

# EXAMENS CLINIQUE ET BACTÉRIOLOGIQUE

DE

DEUX CENTS ENFANTS, ENTRÉS AU PAVILLON DE LA DIPHTÉRIE

A L'HOPITAL DES ENFANTS MALADES,

PAR LOUIS MARTIN,

Interne des hôpitaux.

(Travail du laboratoire de M. Roux, à l'Institut Pasteur.)

---

Elève de M. le Dr Jules Simon à l'hôpital des enfants, j'ai eu l'occasion d'étudier la diphtérie sur de nombreux malades ; frappé de la difficulté de faire le diagnostic avec les seules ressources de la clinique, et me rappelant les recherches de MM. Klebs, Loeffler, Roux et Yersin, j'ai voulu recourir à l'examen bactériologique. Comme je n'étais pas bactériologiste, cette bonne volonté serait restée stérile sans les enseignements que j'ai reçus à l'Institut Pasteur, où M. Roux m'a initié à l'examen des fausses membranes et à la recherche des différents microbes que l'on rencontre dans les angines blanches. Mon travail a été ainsi facilité de telle sorte que j'ai pu réunir 200 observations toutes contrôlées par l'examen bactériologique. Comme témoignage de reconnaissance, je prie M. Roux d'accepter l'hommage de ce premier travail.

Les 200 malades que j'ai examinés ont été reçus au pavillon de la diphtérie avec le diagnostic *diphtérie*, fait le plus souvent par les internes.

Quand un malade arrive à l'hôpital, deux cas peuvent se présenter :

- 1° Il existe une angine blanche avec ou sans troubles laryngés ;
- 2° Il n'y a pas de fausses membranes visibles ; l'enfant se

présente avec des symptômes de laryngite : « il a le croup », disent les parents.

Après un examen rapide basé uniquement sur les symptômes physiques et fonctionnels, ces malades sont le plus souvent dirigés sur le pavillon de la diphtérie. — L'interne est parfois fort en peine de poser un diagnostic ferme ; bien des cas sont douteux ; mais faute de chambres d'observation il est forcé d'envoyer au pavillon Trousseau tous les malades qui se présentent avec des symptômes de diphtérie probable.

Pendant cinq mois, j'ai examiné autant que possible tous les enfants qui entraient au pavillon de la diphtérie, sans aucun choix, en négligeant pourtant des cas où les enfants sont morts dès leur entrée, et quelques croups opérés qui auraient eu à souffrir de mes investigations.

Comme je l'ai déjà fait pressentir, je demandais à la bactériologie un *diagnostic* et rien de plus : après 24 heures, sauf dans quelques rares exceptions, elle nous a permis de le formuler net et précis. Aucun autre procédé ne peut, je crois, donner des renseignements aussi sûrs dans un temps plus court. La clinique est quelquefois absolument insuffisante ; il faut savoir le reconnaître et demander à la microbiologie d'aider la clinique.

Je ne veux pas dire que dans tous les cas d'angines ou de laryngites il faut s'armer de tubes contenant des milieux de cultures variés, et rechercher tous les microbes qui peuvent se trouver sur les muqueuses : ces recherches demandent des hommes très initiés aux travaux de laboratoire ; ce que j'ai fait, ce que tout le monde peut faire avec un tube de sérum, une étuve et un microscope, c'est ce que j'appellerai volontiers de la microbiologie clinique. Il n'est pas besoin d'être un chimiste pour rechercher l'albumine dans les urines ; de même il n'est pas nécessaire d'être un microbiologiste de profession pour reconnaître le bacille de Klebs-Löffler.

Pour arriver au diagnostic, la bactériologie nous fournit deux procédés, nous les considérerons séparément :

- 1° L'examen de la fausse membrane ;
- 2° Lesensemencements sur sérum coagulé et l'examen des cultures après 24 heures.

*Examen direct des fausses membranes.* — Cet examen a été fait



par la méthode de MM. Roux et Yersin <sup>1</sup>, et dans bien des cas il a fait découvrir le microbe de Klebs et permis un diagnostic rapide. Toutefois je ne l'ai pas toujours pratiqué; il demande beaucoup de soins et une grande habitude; il faut examiner plusieurs préparations et bien s'assurer que le bacille se colore par la méthode de Gram. Souvent il est difficile de reconnaître le bacille diphtérique au milieu d'un grand nombre d'autres microbes, et lorsqu'on ne le trouve pas, on n'est pas autorisé à nier la diphtérie; enfin, les chefs de service réclament toujours, pour plus de sûreté, l'ensemencement du sérum.

Dans certains cas de croup sans fausses membranes, l'examen au microscope du mucus de l'arrière-gorge, étalé sur une lamelle et coloré au bleu composé, n'a pas permis un diagnostic suffisamment sûr, et cependant ce même mucus, ensemencé sur sérum, donnait de très nombreuses colonies de bacille diphtérique.

*Ensemencement.* — J'ai toujours opéré avec le sérum coagulé; c'est un milieu qui convient si bien au bacille de la diphtérie que celui-ci s'y développe en quelques heures, avant que les autres microbes de la bouche aient donné une culture.

Nous prenons directement la semence dans la gorge avec un fil de platine aplati en forme de spatule à son extrémité, nous raclons les fausses membranes lorsqu'elles existent, ou simplement la muqueuse dans les cas de laryngites sans fausses membranes, puis nous ensemençons en passant la spatule sur deux ou trois tubes de sérum sans renouveler la prise.

Les tubes sont alors placés pendant 24 heures dans une étuve à 37°; quand on a affaire à une diphtérie vraie, les colonies sont nombreuses surtout sur les premiers tubes ensemencés; déjà, après 18 heures, on peut les reconnaître et les examiner; nous n'avons jamais attendu plus de 24 heures, car, après un temps plus long, d'autres microbes commencent à pulluler et rendent le diagnostic plus difficile.

Dans les cas de diphtérie grave, les colonies du bacille de Klebs sont plus nombreuses que dans les cas bénins; dans certaines angines non diphtériques aucune colonie ne s'est déve-

<sup>1</sup>. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, 3<sup>e</sup> mémoire, chap. I<sup>er</sup>.

loppée dans les premières 24 heures. La présence d'un grand nombre de colonies sur les tubes rend d'ores et déjà probable le diagnostic de diphtérie; il y a cependant certaines angines à coccus qui fournissent par ensemencement sur sérum, et en 24 heures, de nombreuses colonies; un examen au microscope des microbes qui les composent rend toute méprise impossible.

Étudiées sur les tubes où elles ne sont pas trop serrées, les colonies de diphtérie sont arrondies, très régulières; elles sont blanc grisâtre, et par transparence plus opaques à leur centre; en vieillissant, elles s'agrandissent, restent régulières, et se colorent quelquefois en jaune pâle; quelques coccus donnent des colonies qui ressemblent à celles de la diphtérie, cependant leur surface est plus humide, leur centre n'est pas plus épais que leurs bords.

Les colonies de streptocoques sont encore très petites après 24 heures, il n'est pas possible de les confondre avec celles de la diphtérie qui sont au moins six à sept fois plus grandes.

Nous avons aussi trouvé des colonies de *Staphylococcus aureus* et de quelques autres microbes qui liquéfient le sérum: ces colonies se développent surtout après 24 heures et ne gênent pas l'observateur.

Dans tout ce travail, nous ne considérons que les colonies microbiennes qui poussent sur sérum. En employant d'autres milieux de culture, on isolerait sans doute des espèces différentes de celles que nous décrivons, mais comme notre but est la recherche du bacille diphtérique, c'est le sérum coagulé que nous devons employer.

Quand les colonies diphtériques sont en grande majorité, nous regardons le cas comme une diphtérie pure; mais si, avec le bacille de la diphtérie, nous trouvons de nombreuses colonies d'espèces différentes, nous tenons compte de ces associations microbiennes. Les microbes associés aux bacilles de Klebs sont le plus souvent des coccus et des streptocoques, leur présence a une influence sur la marche de la maladie et peut servir à établir un pronostic.

Les formes bacillaires n'appartenant pas au bacille diphtérique sont très rares et ne donnent guère sur le sérum des colonies isolées; plusieurs fois nous avons rencontré des bacilles très longs, mais nous ne nous arrêterons pas à leur des-

cription, non plus qu'à celle d'autres microbes qu'on ne rencontre qu'exceptionnellement.

L'examen du nombre et de la forme des colonies n'est qu'un travail préparatoire, il doit être suivi de l'examen microscopique. Le bacille diphtérique ne se présente pas toujours avec la même forme; nous en distinguerons trois variétés:

Il y a des bacilles longs, intriqués, enchevêtrés: ce sont les bacilles types de la diphtérie, qui sont décrits par tous les auteurs.

Il existe aussi de petits bacilles courts disposés parallèlement les uns aux autres. Ils paraissent plus gros que les bacilles ordinaires, à cause de leur peu de longueur.

Entre les bacilles longs et les bacilles courts il existe une forme intermédiaire de bacilles de moyenne longueur, se disposant parallèlement les uns aux autres.

Les colonies de ces trois formes ne se distinguent pas sur sérum; cependant les bacilles courts donnent souvent des colonies plus blanches, plus humides, qui continuent à croître, même en dehors de l'étuve, et leur description rappelle singulièrement celle du pseudo-bacille donnée par Lœffler. En général, dans le bouillon, ces bacilles gardent les formes allongées ou trapues qu'ils avaient sur sérum.

Au point de vue de la virulence, il y a des différences entre ces bacilles de diverses formes qui sont tous des bacilles diphtériques.

Nous regardons les bacilles courts disposés parallèlement les uns aux autres comme très bénins; les bacilles moyens comme peu toxiques; les bacilles longs intriqués comme les plus toxiques.

Dans nombre de cas nous avons vérifié qu'il en est ainsi; nous verrons cependant des malades mourir avec des bacilles courts, ceux-ci sont alors associés aux streptocoques. De même dans des cas de rougeole avec angine, nous trouverons très souvent le bacille moyen; peu virulent d'ordinaire, il peut devenir mortel pour les enfants rubéoleux.

Dans l'état actuel de la science, si l'on se contente de faire de la bactériologie clinique, il faut ne demander à celle-ci qu'un diagnostic, et celui-ci obtenu, revenir à la clinique.

Parmi les données cliniques, considérons les fausses mem-



branes, l'état des ganglions, la recherche de l'albumine et enfin la température.

Les fausses membranes de la diphtérie typique sont adhérentes, élastiques, grisâtres, et siègent volontiers sur les piliers du voile du palais, sur la luette ; mais aucune de ces particularités n'est caractéristique : ni le siège, ni l'aspect, ni la consistance des fausses membranes ne donnent des renseignements sûrs. Quand le bacille diphtérique est associé à des microbes étrangers, les fausses membranes peuvent prendre une teinte foncée et se ramollir sans cesser cependant d'être diphtériques. De plus, dans bien des cas de laryngite, on n'observe pas d'enduit membraneux ; l'examen bactériologique seul peut tirer d'embarras. D'ailleurs, l'examen bactériologique, bien loin de porter à négliger les signes cliniques, aide et encourage dans l'étude des symptômes. En unissant la clinique à la bactériologie, la curiosité est excitée, on regarde mieux ; on voit parfois, non sans plaisir, une fausse membrane, jugée de prime abord comme diphtérique et que l'examen bactériologique a démontré ne pas l'être, disparaître vers le 2<sup>e</sup> jour, quelquefois le lendemain de l'entrée du malade. On verra alors qu'elle est plus blanche et moins adhérente que les dépôts diphtériques véritables. L'attention est ainsi attirée sur des différences peu sensibles ; par ses avertissements, la bactériologie aide à l'instruction des yeux, et par l'intérêt qu'elle ajoute aux observations, elle rend meilleur clinicien.

L'engorgement ganglionnaire est un signe important, mais il n'est pas spécial à l'angine diphtérique. Les angines diphtériques qui s'accompagnent de gonflement considérable du cou ne sont pas celles où le bacille diphtérique est le plus abondant ; dans ces formes à cou proconsulaire, il est le plus souvent mélangé à d'autres microbes qui ont leur part dans la production de l'engorgement.

L'albuminurie est souvent tardive dans la diphtérie et se produit aussi dans des angines non diphtériques. N'insistons donc pas sur ces données cliniques, bien connues, mais impuissantes trop souvent à affirmer le diagnostic.

Dans la question du *pronostic*, la clinique prend la première place, non pas que la bactériologie ne puisse fournir des renseignements précieux sur la virulence du bacille et par conséquent

sur les dangers que court le malade, mais c'est un point spécial que nous n'avons pas étudié et sur lequel nous renvoyons nos lecteurs au mémoire de MM. Roux et Versin <sup>1</sup>. Nous avons, au contraire, suivi attentivement la marche de la température au point de vue du pronostic, et nous pouvons dire aujourd'hui que nous serions fort en peine de formuler un pronostic sans l'examen de la courbe thermométrique. Malgré les observations de Bouffé, Francotte, Labadie-Lagrave, presque tous les auteurs classiques négligent cette étude ; toutefois l'examen, sans idée préconçue, des nombreux tracés que nous possédons nous montre qu'il faut en tenir grand compte <sup>2</sup>.

Il est bien entendu que nous parlons de la température rectale prise matin et soir régulièrement aux mêmes heures ; dans tous les cas que nous citerons, c'est la surveillante du service, M<sup>me</sup> Querleux-Daussoir <sup>3</sup>, qui a relevé les températures ; nous avons la plus grande confiance dans ces tracés, parce que nous les avons vérifiés maintes fois et que toujours nous les avons trouvés exacts.

Au début d'une affection diphtérique, la température oscille ordinairement entre 38° et 39° ; elle est en somme peu élevée ;

Puis elle peut se comporter de deux façons :

1° Elle restera entre 38° et 39° sans dépasser 39° le soir, nous dirons alors que la température est peu élevée ;

2° Elle dépassera 39° le soir, décrira des oscillations ascendantes pour atteindre le voisinage de 40° : nous dirons alors que la température évolue dans les régions élevées. Dans quelques cas, paraît-il, la température atteint d'emblée ces régions élevées : nous ne pouvons éclaircir ce point, car nous n'avons jamais vu les enfants dès les premiers jours de leur maladie.

Les courbes à température peu élevée peuvent se maintenir en plateau pendant 4 ou 6 jours, puis subir des oscillations descendantes, ou encore subir immédiatement des oscillations descendantes.

1. *Loc. cit.*

2. Nos conclusions sur la température se rapprochent beaucoup de celles de F. Bouffé, citées par Francotte : *La diphtérie*, Bruxelles, 1885.

3. Comme tous les travailleurs qui sont venus chercher des matériaux au pavillon de la diphtérie, nous avons trouvé en M<sup>me</sup> Querleux-Daussoir un aide aussi intelligent que dévoué ; nous la remercions sincèrement.

Dans ces deux cas, le pronostic est favorable. Tant que la température est ascendante, et à plus forte raison tant que la température est élevée, il faut réserver le pronostic.

Passons à l'étude des observations où la température est élevée :

Si la température reste entre 39° et 40°, pendant deux ou trois jours, le pronostic est sérieux mais non fatal.

Si elle reste plus de trois jours sans oscillations descendantes, le pronostic est des plus graves.

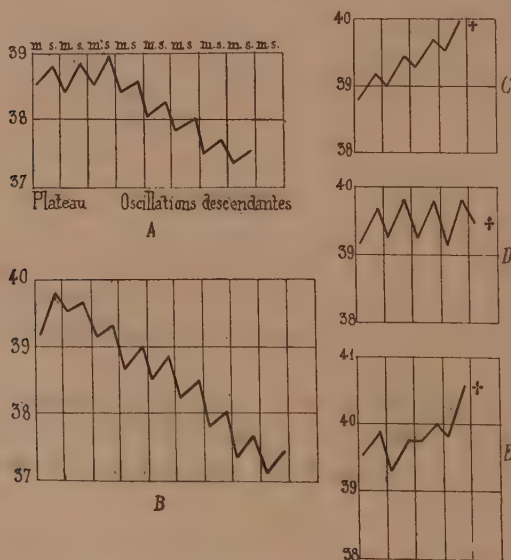
Si la température atteint le voisinage de 40° et monte encore, subissant des oscillations ascendantes, le pronostic est presque toujours fatal.

Si après avoir atteint et dépassé 39°, la température descend ensuite régulièrement en lysis, le pronostic est favorable.

La chute brusque de la température n'est pas ordinairement d'un bon pronostic.

En résumé, les courbes à pronostic favorable sont :

1° Les courbes évoluant dans les régions peu élevées : tracé (A);



2° Les courbes d'abord élevées, puis régulièrement descendantes (B).

Les courbes à pronostic défavorable sont :

1° Les courbes régulièrement ascendantes (C);



2° Les courbes en plateau dans les régions élevées (D);

3° Les courbes à oscillations ascendantes dans les régions élevées (E).

Une seule fois sur 200 observations (chez le n° 93), nous avons vu la mort survenir au 4<sup>e</sup> jour de la maladie avec une courbe peu élevée; ce malade a eu des convulsions et il est mort subitement.

En continuant nos recherches, nous avons trouvé une observation où le malade, après avoir donné une courbe en plateau dans les régions élevées, a eu une chute subite de la température vers le 8<sup>e</sup> jour. Celle-ci est restée basse jusqu'à la mort qui survint trois jours après la baisse de la température. Cette observation n'entre pas dans les 200 que nous allons étudier : j'en parle pour montrer que je n'ignore pas les exceptions aux règles précédemment énumérées, mais elles sont très rares; d'ailleurs l'état général de l'enfant ne permettait pas dans ce dernier cas de s'illusionner sur le pronostic.

La température fournit encore d'autres renseignements; elle nous prévient très exactement de l'envahissement de nouvelles régions; quand la diphtérie envahit le larynx, la température monte : quand du larynx elle gagne les bronches ou le poumon, la température monte encore.

Supposons une angine en voie de guérison où la température a décrit des oscillations descendantes : si, après être tombée à 38° le soir, elle marque brusquement 39° le matin, 39°8 le soir, l'indication est absolue, la maladie s'étend ou se complique, et parmi les complications, nous devons signaler les infections nouvelles produites par les streptocoques ou par des microbes de la gangrène qui viennent s'ajouter aux bacilles déjà existants.

Pour terminer cette exposition, nous ajouterons que souvent aux autopsies nous avons recherché les bacilles diphtériques dans les voies respiratoires ; en particulier dans le parenchyme pulmonaire. Nous les y avons très souvent rencontrés. Dans tous les cas il y avait une inflammation du poumon, qui se présentait sous forme de broncho-pneumonie lobulaire. Pour rechercher le bacille, nous brûlons au fer rouge la surface du poumon, et nous faisons une prise dans le parenchyme, avec un fil de platine aplati en forme de spatule à son extrémité, puis nous ensemençons sur sérum, et très souvent 24 heures après on a des colonies très nombreuses de diphtérie. Plusieurs fois c'est dans le poumon que

nous avons trouvé la plus grande quantité de bacilles. Dans ces observations, il n'y avait pas de fausses membranes dans la gorge, et très peu dans la trachée ; c'est le parenchyme pulmonaire qui était le siège principal de l'infection.

Nous pensons même que, dans certains cas, le poumon peut être envahi primitivement, et que la trachée et le larynx ne sont pris que secondairement <sup>1</sup>.

---

## DIVISION ET CLASSIFICATION DES OBSERVATIONS

---

Dans l'étude des 200 observations, nous établirons trois grandes divisions :

- 1° Les angines non diphtériques, 43 cas ;
- 2° Les angines diphtériques, 69 cas ;
- 3° Les croups, 88 cas.

### ANGINES NON DIPHTÉRIQUES.

43 malades ont été envoyés au pavillon de la diphtérie qui n'avaient point d'angines diphtériques. Parmi eux, 4 étaient atteints de rougeole. L'un de ces rougeoleux (n° 118) est mort trois heures après son entrée : il n'avait point de fausses membranes dans la gorge, mais seulement un peu de rougeur de la muqueuse. Les trois autres présentaient de l'angine pultacée, accompagnée dans un cas de gonflement des ganglions et de jetage ; l'aspect de l'enduit blanchâtre n'était point diphtérique, et, à l'ensemencement sur le sérum, on n'obtint que des colonies de streptocoques. Deux de ces enfants ont guéri, un a succombé le 17<sup>e</sup> jour à la broncho-pneumonie. Ces angines rubéoliques n'avaient donc rien à faire avec la diphtérie, elles étaient faciles à reconnaître et ces petits malades n'auraient pas dû entrer au pavillon Trousseau. Nous en dirons autant de deux enfants (n°s 88 et 96) qui sont venus mourir au pavillon,

1. MM. les chefs de service de l'hôpital des Enfants Malades nous ont tous facilité l'accès de leur service. Qu'ils daignent accepter l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

Nous remercions également MM. les chefs de clinique et les internes qui ont bien voulu en toute occasion nous aider dans nos recherches.

l'un de broncho-pneumonie et l'autre d'entérite avec diarrhée intense ; ils n'avaient que de la rougeur de la gorge, et le mucus pharyngien ensemencé n'a point montré de bacilles diphtériques.

Le cas de Georges A (n° 177), âgé de 28 mois et entré le 11 décembre 1891, nous montre qu'il n'est pas sans danger de laisser dans un service de diphtériques un malade atteint d'angine simple. A son arrivée à l'hôpital, on trouve chez cet enfant une angine légère avec rougeur de la muqueuse, sans fausses membranes, et sans gonflement des amygdales ni engorgement ganglionnaire. La température est de 38° le matin et de 38° 6 le soir. État général bon. Le 12, un ensemencement est fait sur sérum ; le 13, il ne s'est développé que quelques colonies d'un gros coccus : l'enfant a de la bronchite, mais il se rétablit vite et va bien à partir du 15. Le 20, il est abattu ; la température qui était le matin de 37° 6 monte le soir à 39°. Le 31 le cou est gonflé, les deux amygdales sont grosses et portent des fausses membranes très épaisses ; deux tubes de sérum ensemencés montrent le 22 de très nombreuses colonies de bacille diphtérique. Les parents, frappés du changement survenu dans l'état de l'enfant, l'emmènent chez eux très gravement malade. Il nous semble qu'ici la contagion est évidente ; nous pourrions citer d'autres cas semblables. C'est en présence de pareils faits que l'on regrette la mauvaise installation de l'Hôpital des Enfants, où il n'existe pas de pavillon d'observation.

Retranchons donc de nos 43 observations d'angines non diphtériques les 7 observations que nous venons de résumer. Il nous en reste 36 dans lesquelles on constate la présence de fausses membranes. La clinique ne nous donne aucun renseignement sur la nature de ces 36 angines ; des médecins exercés les ont prises pour des angines diphtériques, et cependant l'examen bactériologique a démontré qu'aucune d'elles n'était due au bacille spécifique. Elles ont donc donné lieu à 36 erreurs de diagnostic, impossibles à éviter cliniquement, qui ont eu pour conséquence d'exposer à la contagion 36 enfants en état de réceptivité. Dès que l'examen microbien eut rectifié le diagnostic, les chefs de service se sont empressés de faire sortir ces enfants du pavillon de la diphtérie : aucun d'eux n'y a été ramené, ce qui prouve bien que la bactériologie avait raison contre la clinique. Plusieurs de ces malades sont cependant restés au



pavillon Trousseau, parce que les autres médecins de l'hôpital ne tenaient pas à recevoir dans leurs services des enfants suspects de diphtérie; ils ont guéri sans être contaminés. C'est un fait remarquable que la rareté de la contagion dans ces conditions; toutefois, l'exemple que nous avons cité plus haut montre qu'elle peut se produire, et que le séjour dans des salles de diphtériques n'est pas toujours inoffensif.

Nous classerons les 36 angines non diphtériques qui nous occupent d'après les résultats fournis par l'ensemencement sur sérum.

Nous ne dirons rien de 2 angines très bénignes mal étudiées, dont l'une a fourni à l'ensemencement un bacille non déterminé, et l'autre n'a donné aucune colonie microbienne. Dans un autre cas où il y avait des fausses membranes, nous n'avons obtenu qu'une seule colonie de bacille diphtérique: nous n'avons pas cru pouvoir conclure à la diphtérie.

Il nous reste donc 33 angines non diphtériques que nous diviserons en: 1<sup>re</sup> angines à coccus; 2<sup>o</sup> angines à streptocoques.

1<sup>re</sup> *Angines à coccus* (25 cas). — Nous désignons ainsi les angines avec fausses membranes qui, par ensemencement sur sérum, ne donnent pas de colonies de diphtérie, mais des colonies de coccus.

Dans ces angines, nous avons rencontré surtout 3 espèces de coccus. L'espèce la plus fréquente (20 cas sur 25) est un petit coccus disposé souvent en diplocoque et déjà décrit par MM. Roux et Yersin. Il se trouve en nombre immense dans les fausses membranes où il est, par places, en culture pure; nous le regardons comme la véritable cause de l'angine. L'ensemencement de ces fausses membranes sur sérum donne, en moins de 24 heures, des colonies qui ne liquéfient point, aussi nombreuses et aussi pures que les colonies de bacille de Klebs obtenues dans les cas de diphtérie typique. A un examen superficiel, ces colonies simulent celles de la diphtérie, mais elles sont plus humides et plus transparentes. Le bleu de Loeffler, le bleu composé colorent facilement le coccus, qui se teint aussi par la méthode de Gram. La culture se fait bien sur gélose nutritive. Les fausses membranes que produit le coccus sur les muqueuses sont si semblables aux membranes diphtériques qu'elles sont le plus souvent regardées comme telles par des médecins très

experts; comme ces dernières, elles se reproduisent très vite quand on les enlève. Cependant, après que l'on a été averti de la véritable nature de l'angine par les résultats de l'ensemencement sur sérum, on remarque que la pseudo-membrane à coccus est moins élastique, et d'un blanc plus mat que la membrane diphtérique. Mais à un premier examen, aucun clinicien n'oserait appuyer son diagnostic sur des différences si petites. De plus, il n'est pas rare de constater dans ces angines un gonflement des ganglions du cou qui facilite encore la méprise.

Dans les formes sévères de ces angines à coccus, on observe de l'inappétence, de la prostration, et la température monte parfois au-dessus de 40°. Cette élévation thermique, considérable dès le début de la maladie, n'est pas la règle dans la diphtérie. Les fausses membranes persistent quelques jours, puis deviennent moins épaisses et moins adhérentes. Une particularité de ces angines, c'est leur récurrence assez fréquente.

OBSERVATION N° 20. *Abel B...* Cet enfant a déjà été observé par MM. Roux et Yersin en 1890: il nous fournit un exemple de nombreuses récurrences. Il est connu depuis longtemps au pavillon de la diphtérie, où il revient périodiquement sans avoir jamais été atteint d'angine diphtérique vraie. En avril 1889, il entre au pavillon Trousseau pour une angine; il y revient en mars 1890. MM. Roux et Yersin constatent qu'il est atteint d'une angine à fausses membranes causée par le petit coccus qui nous occupe. En mai de la même année, *Abel B...* entre de nouveau dans le service de la diphtérie. MM. Roux et Yersin s'assurent que ses pseudo-membranes ne renferment pas le bacille de Klebs-Löffler, mais encore le petit coccus. En août 1891, l'enfant revient pour la 4<sup>e</sup> fois avec une angine blanche: les ensemencements donnent encore le même coccus.

En janvier 1892, nous le revoyons encore à la consultation. La mère nous apprend que le 20 décembre 1891 il a eu de l'angine avec des points blancs sur l'amygdale gauche, en même temps que de l'inappétence et de la céphalalgie. Ces symptômes avaient rapidement disparu. L'enfant retombe malade le 3 janvier 1892 avec prostration et forte fièvre, la mère le trouve plus fatigué que dans les attaques précédentes. L'amygdale droite est recouverte de fausses membranes, qui s'étendent bientôt sur l'amygdale gauche. Le 5 janvier, après avoir pris un vomitif, l'enfant rejette une fausse membrane sanguinolente. Il est impossible de distinguer cliniquement cette angine d'une angine diphtérique; l'aspect des fausses membranes est diphtérique, les ganglions sont engorgés et le cou est œdémateux. Pas d'albumine dans l'urine. La température est de 40° le soir.

Un ensemencement fait sur 2 tubes à sérum le 5 janvier donne, le 6, de très nombreuses colonies sur le premier tube et des colonies assez nombreuses sur le second. Toutes sont formées par le petit coccus que nous avons décrit.

Trois autres ensemencements pratiqués les jours suivants donnent le même résultat.

Dès le 7 janvier, l'état général s'améliore, l'amygdale gauche est libre les pseudo-membranes persistent sur l'amygdale droite jusqu'au 8 janvier, la température devient alors normale et l'abattement disparaît. Entre 2 et 4 ans, Abel B... a donc eu 5 attaques d'angine à coccus.

N° 106. Enfant entré à la diphtérie une première fois en mai 1891, une deuxième fois en janvier 92, avec une angine à fausses membranes ne contenant pas de bacille diphtérique, mais le même coccus que précédemment.

N° 40. Enfant entré à la diphtérie une première fois le 27 février, une deuxième fois le 13 du mois suivant, pour une angine pseudo-membraneuse due au même coccus.

Les cas moyens de ces angines à coccus sont caractérisés par une courbe de température moins élevée et s'abaissant régulièrement jusqu'à la normale. Les pseudo-membranes recouvrent parfois la luette comme dans la diphtérie.

La maladie bénigne est tout à fait passagère. Les fausses membranes peu épaisses, peu étendues, se désagrègent facilement et ne se reproduisent pas. La muqueuse est peu ou point enflammée, les amygdales ne sont pas tuméfiées, les ganglions ne sont pas engorgés. La température ne dépasse pas 39° et revient rapidement à 37°2-37°6. Les symptômes de ces angines bénignes paraîtront à ceux qui liront ce mémoire bien différents de ceux de la diphtérie, et on pourra s'étonner que des confusions puissent être faites dans ces cas. Nous verrons cependant qu'il y a de véritables angines diphtériques qui se présentent avec les mêmes signes anodins, et que le clinicien prend souvent pour des folliculites <sup>1</sup>. Alors on n'isole pas l'enfant, qui reste dans sa famille ou dans les salles de malades ordinaires et devient le point de départ d'une épidémie. Nous ne saurions trop le répéter: seul, l'examen bactériologique peut tirer de ces cas difficiles.

Ces angines à coccus ne sont pas meurtrières: nous les avons toujours vu guérir rapidement; elles ne laissent point après elles

1. Comme exemple de ces angines particulièrement bénignes, nous citerons l'observation 89: Lisa G... 4 ans, est reçue au pavillon de la diphtérie le 20 octobre 1891, elle a de l'angine depuis le 17. L'interne de garde qui l'examine constate des points blancs sur les amygdales. Le lendemain à la visite tout a disparu, les ensemencements sur sérum ne donnent que des petits coccus. Que peut faire un interne dans des cas semblables? Qui pourra lui dire qu'il n'a pas sous les yeux un premier point de diphtérie? Faute de chambres d'observation, il ne peut qu'envoyer l'enfant au pavillon de la diphtérie.



de signes d'intoxication. Il est évident que l'étude de ce coccus doit être reprise; il faut surtout voir son action sur les animaux. C'est un point sur lequel nous nous réservons de revenir.

*Angines à streptocoques.* Le streptocoque pyogène est un microbe très commun, hôte fréquent de la bouche; il est capable de produire sur les muqueuses altérées des exsudats fibrineux et de provoquer la formation de pseudo-membranes: MM. Chan-temesse et Widal en ont cité des exemples. On peut dire que dans les fausses membranes des angines il y a toujours des streptocoques en plus ou moins grande quantité. Mais il y a des angines où ils existent en nombre immense, et où ils semblent jouer le rôle prépondérant. Ces angines ne donnent pas à l'ensemencement sur sérum de bacilles de Klebs-Löffler, mais un grand nombre de petites colonies punctiformes qui ne grandissent jamais beaucoup. Les angines à streptocoques ont déjà été étudiées par M. Prudden, qui les a d'abord confondues avec les angines diphthériques vraies, et par MM. Wurtz et Bourges, qui ont reconnu que l'angine scarlatineuse était due au streptocoque. Ces streptocoques, que l'on rencontre dans les angines, appartiennent-ils à une même espèce? Peut-on dans tous les cas les identifier avec le streptocoque pyogène? Ont-ils la même virulence que ceux que l'on trouve normalement dans le mucus buccal? La réponse à ces questions nécessite encore des recherches, car la grande ressemblance de tous ces streptocoques ne peut autoriser à conclure à leur identité.

Nous avons rencontré 8 angines à streptocoques, envoyées au pavillon comme diphthériques. Dans les unes, l'enduit pultacé était peu adhérent; dans les autres, au contraire, l'exsudat membraneux était épais et très fortement attaché à la muqueuse. Elles débutent par de la fièvre, de la douleur dans la gorge. L'isthme du gosier est rouge, et bientôt apparaissent les pseudo-membranes qui se montrent souvent sur la luette. Elles sont blanc grisâtre, parfois rougeâtres, et entourées d'une muqueuse enflammée qui les déborde et les enchâtonne sur les bords. Les ganglions s'engorgent souvent. La température s'élève au-dessus de 39° et la prostration est marquée. Quelquefois des plaques érythémateuses se dessinent sur les membres.

OBSERVATION N° 22. Fillette de 6 ans, entrée le 14 août 1891; état général

mauvais, prostration, enduit sur les dents, gencives fuligineuses. Toute la muqueuse de l'isthme du gosier est tapissée de fausses membranes blanc grisâtre. De chaque côté du cou il y a un ganglion volumineux et douloureux. L'ensemencement sur sérum donne presque uniquement des colonies de streptocoques, bien visibles après 48 heures. Des lavages antiseptiques sont pratiqués fréquemment, et le 5<sup>e</sup> jour l'enduit a disparu; l'enfant sort guéri le 15<sup>e</sup> jour.

M. Morel (*Thèse de Doctorat*, Paris 1891) a rapporté des observations analogues d'angines à streptocoques. Ces angines ne sont pas ordinairement mortelles<sup>1</sup>, bien que les signes infectieux soient souvent assez prononcés; mais elles deviennent extrêmement graves si elles se compliquent de diphtérie.

Nous citerons simplement pour mémoire 3 cas d'angines scarlatineuses avec fausses membranes, sans bacilles de Klebs. Les n<sup>os</sup> 7 et 36 étaient des angines de début de la scarlatine, elles nous ont donné des streptocoques, et en outre, dans le cas 7, quelques colonies de bacilles pseudo-diphtériques. Le malade inscrit sous le n<sup>o</sup> 18 a eu la scarlatine, il desquame au moment de son entrée au pavillon. Son état général est mauvais, les deux amygdales sont recouvertes de fausses membranes, la luette est libre. Neuf jours après son entrée, on remarque deux gros ganglions fluctuants; il meurt le 10<sup>e</sup> jour, l'autopsie n'a pas été faite. Les cultures ont donné des streptocoques.

Nous en avons fini avec les angines non diphtériques qui se sont présentées à nous, comme par occasion, au pavillon Troussseau. Nous nous sommes bornés à les distinguer des angines diphtériques sans les étudier à fond. Elles méritent des recherches plus détaillées; elles ne nous seront connues que le jour où on aura distingué le microbe particulier à chacune d'elles, ou encore les associations microbiennes qui les causent. Pour cela il ne faut pas s'en tenir à la culture sur sérum, excellente pour mettre en évidence le bacille de Klebs-Löffler, mais insuffisante évidemment pour la reconnaissance des autres espèces.

*Autres angines à coccus* (5 cas).—Le petit coccus que nous venons de décrire est celui qui cause le plus fréquemment les angines à fausses membranes, simulant la diphtérie. Mais il est encore d'autres microbes en coccus qui produisent des angines blanches.

1. Excepté chez les très jeunes enfants.

Nous signalerons notamment un coccus, plus gros que le précédent, liquéfiant le sérum, et que nous avons trouvé en abondance dans la pseudo-membrane d'une angine prise pour une angine diphtérique.

OBSERVATION 125. — Cécile C... 14 ans 1/2, entre au pavillon Trousseau le 31 octobre 1891; elle est amaigrie, pâle et prostrée. Les deux amygdales sont si volumineuses qu'elles arrivent au contact, la luette est peu tuméfiée. Une fausse membrane recouvre entièrement l'amygdale gauche; des taches pseudo-membraneuses sont éparses sur l'amygdale droite. En avant du pilier antérieur droit, il existe une fausse membrane très adhérente entourée d'une muqueuse rouge et œdémateuse. Les ganglions ne sont pas engorgés, les urines ne contiennent pas d'albumine. Sur les membres, surtout au niveau des coudes et des genoux, on voit de larges plaques d'érythème.

Le 31 octobre à midi on ensemence deux tubes de sérum. Le 1<sup>er</sup> novembre, des colonies se sont développées seulement sur le premier tube, elles liquéfient le sérum et sont formées par un coccus; il n'y a pas une seule colonie diphtérique. Très étonné de ce résultat, le chef du service, M. Descroizille, nous demande de faire un nouvel examen, le 2 novembre; on obtient encore des colonies de coccus, mais pas un bacille diphtérique.

La marche de la maladie a d'ailleurs confirmé le diagnostic bactériologique. La température qui était de 40° le 31 octobre au soir, était de 38° le 5 novembre, et, le 12<sup>e</sup> jour, Cécile C. sortait guérie.

Dans 2 autres cas d'angines pseudo-membraneuses, la culture sur sérum nous a fourni du *Staphylococcus albus* en grande abondance. Ces angines à Staphylocoques avaient l'aspect d'angines pultacées, et l'état général des enfants était bien plus mauvais que dans les précédentes angines à coccus.

Dans l'observation n° 188, l'ensemencement sur sérum donne du *Staphylococcus albus*, et l'enfant meurt au 7<sup>e</sup> jour de la maladie, 3 jours après son entrée, avec des symptômes infectieux; il n'a pas été possible de pratiquer l'autopsie.

L'observation n° 141 se rapporte à un enfant entré au pavillon Trousseau le 16 octobre 1891, pour une angine à fausses membranes, non diphtérique. L'ensemencement sur sérum n'a donné que des colonies de *Staphylococcus aureus*; après sept jours, l'enfant est sorti guéri. Il revient le 11 décembre 1891 avec une angine diphtérique vraie, il meurt avec des signes d'infection. L'examen bactériologique et la culture ont montré que le bacille de Klebs-Löffler existait en abondance dans les pseudo-membranes. La première angine a-t-elle facilité



l'invasion de la diphtérie? le germe de la maladie a-t-il été pris dans le service? Il est difficile de répondre à ces questions, mais assurément il eût mieux valu que le petit malade ne soit pas entré une première fois en octobre au pavillon de la diphtérie.

Lorsque l'ensemencement donne des colonies de microbes aussi répandus que le *Staphylococcus albus* et le *Staphylococcus aureus*, est-on fondé à attribuer l'angine à ces espèces qui peuvent normalement se trouver dans la bouche? Dans les observations qui précèdent, nous pensons que les staphylocoques étaient bien la cause de la maladie, car ils étaient très nombreux dans les fausses membranes : dans les conditions ordinaires, le mucus buccal n'en contient pas de semblables quantités.

#### ANGINES DIPHTÉRIQUES SANS CROUP.

Nous avons pu réunir 69 observations dans lesquelles la diphtérie s'est manifestée par une angine sans se compliquer de troubles laryngés.

Sur ces 69 cas, nous en trouvons 52 où l'ensemencement sur sérum coagulé nous a donné des colonies très abondantes de bacilles diphtériques, presque sans autres colonies microbiennes.

Nous avons en outre 17 observations où l'enfant avait une angine diphtéritique avec associations microbiennes.

*Angines diphtériques pures.* — 52 cas. — Nous étudierons séparément les angines qui ont guéri (24) et les angines qui ont causé la mort (28).

*Les angines diphtériques qui ont guéri* correspondent à la description suivante :

L'enfant se présente avec un état général ordinairement satisfaisant; le teint est naturel.

Les fausses membranes sont blanches, très légèrement grisâtres. Elles ne sont pas continues; il y a entre elles des intervalles de muqueuse saine ou peu enflammée, l'angine simule souvent une folliculite : deux ou trois points blancs paraissent émerger des cryptes de l'amygdale.

Nous avons rencontré quelquefois des lésions qui simulaient une plaque muqueuse syphilitique. Deux ou trois de ces surfaces

ulcérées, recouvertes d'un enduit grisâtre, pultacé, se voyaient sur les amygdales légèrement augmentées de volume.

Il n'est pas rare de voir dans ces formes que les lésions sont unilatérales ou au moins très marquées d'un côté, tandis qu'elles sont à peine apparentes du côté opposé. Les ganglions sont peu engorgés. Il y a peu ou pas d'albumine dans les urines. La température n'est généralement pas élevée.

Dans trois cas elle a atteint au début 39°6 le soir de l'entrée, mais elle est devenue régulièrement descendante dès le lendemain. Jamais nous ne trouvons le type régulièrement ascendant. Dans le plus grand nombre des cas, la température ne dépasse pas 39° et la courbe est régulièrement descendante, si bien que toutes ces angines pourraient être classées sous le nom d'angines diphthériques à températures peu élevées. Nous avons été frappé de cette concordance entre la courbe thermométrique et l'issue favorable de la maladie.

Dans ces 24 cas, le diagnostic a été généralement facile ; mais il y a deux façons de faire une erreur de diagnostic :

On peut croire à une angine diphthérique alors qu'on se trouve en présence d'une angine non spécifique : nous avons traité ce sujet à propos des angines non diphthériques.

Il y a une autre erreur qui consiste à prendre une angine diphthérique pour une angine simple. Cette erreur est plus difficile à commettre, mais elle est souvent très funeste pour l'entourage des petits malades ; Trousseau avait déjà insisté sur ces cas, qui peuvent donner par contagion une diphthérie grave. Ce sont ces angines que notre maître, M. Jules Simon, signale chaque fois qu'il les rencontre, il insiste sur leur bénignité plus souvent apparente que réelle ; il faut toujours traiter ces points blancs comme des angines diphthériques. Toutefois, lorsqu'elles guérissent rapidement, il est souvent bien difficile de faire accepter son diagnostic par la famille ; l'examen microscopique seul peut donner au médecin la certitude, lui permettre de parler avec assurance et de demander avec autorité une désinfection générale et soignée.

Nous avons pu suivre le n° 95, voici son observation :

L'enfant, âgé de 8 ans, est en traitement, salle Blache, pour une varicelle, depuis le 10 décembre.

Le 15 décembre il souffre du gosier, l'examen montre un point blanc sur l'amygdale gauche.

Nous ensemençons deux tubes immédiatement.

Le 16, l'enfant présente un voile léger sur l'amygdale gauche.

Il faut mettre l'enfant en pleine lumière pour voir la lésion, et cependant les tubes ensemencés la veille sont remplis de colonies diphtériques.

Le lendemain 17, l'enfant était guéri, sa maladie avait duré trois jours.

Le n° 181 présente des symptômes identiques, l'enfant eût été renvoyé dès le lendemain de son entrée sans l'examen microscopique.

Il est inutile, croyons-nous, d'insister plus longtemps sur l'importance étiologique de ces angines si bénignes : nos deux malades étaient parfaitement en état de sortir, de fréquenter leurs camarades, ils auraient pu créer des centres de contagion dont le point de départ serait absolument passé inaperçu. Concluons en disant, avec tous les médecins d'enfants, qu'au moindre malaise on doit examiner la gorge d'un enfant, et, sitôt qu'on trouve un point blanc, rechercher le bacille diphtérique.

Dans les 24 cas que nous venons d'étudier, on trouvait le plus souvent de nombreuses colonies sur le 1<sup>er</sup> tube ensemencé avec le fil de platine, et des colonies peu nombreuses et bien isolées sur le 2<sup>e</sup> tube.

Dans 17 cas nous avons trouvé le bacille long, intriqué, le bacille type de tous les auteurs.

Dans 4 cas nous avons rencontré le bacille moyen.

Dans 3 cas le bacille court et gros.

Il est important de signaler que c'est dans les formes bénignes que nous trouvons des bacilles moyens ou courts, tandis que dans les angines mortelles nous ne les avons trouvés qu'une fois, et encore chez un enfant qui a succombé surtout au progrès de la tuberculose.

La virulence de ces bacilles moyens et courts doit être étudiée sur les animaux ; le petit nombre d'essais que nous avons faits dans cette direction nous montre qu'ils sont le plus souvent peu actifs. Nous les trouvons cependant dans des cas où la mort survient, mais ils sont alors associés à des streptocoques, ou se



sont développés chez des enfants déjà malades, chez des rougeoleux par exemple.

*Angines diphtériques mortelles* (28). — Les angines diphtériques pures nous ont donné 28 morts.

Ces cas rentrent presque tous dans l'ancienne division des angines toxiques, c'est-à-dire des angines qui tuent les malades par le poison diphtérique. Voici du reste le tableau qui se présente le plus fréquemment :

L'enfant montre une prostration et un affaiblissement général, qui s'accroît avec les progrès de la maladie. Son teint est pâle, plombé; parfois ses lèvres sont violacées, sa figure prend la teinte asphyxique sans qu'il y ait pourtant de troubles laryngés.

L'examen de la gorge montre que le plus souvent les fausses membranes sont épaisses, adhérentes; blanches au début, elles prennent rapidement une coloration grisâtre ou blanc rougeâtre, leur surface est régulière, veloutée; elles tapissent l'isthme du gosier tout entier, recouvrent les amygdales, la luette, les piliers, sans intervalle de muqueuse libre.

Nous possédons cependant quelques observations, nos 112, 164, où les fausses membranes étaient rares; il n'y avait qu'un point blanc sur les côtés de la luette pour le n° 112, et on ne pouvait baser son pronostic sur l'état de la gorge.

Les ganglions sont toujours engorgés, leur volume est très variable; il n'y a pas ordinairement d'œdème autour de ces ganglions, ce n'est pas dans ces cas que l'on voit le cou proconsulaire.

Il y a de l'albumine dans les urines; au début l'albumine peut manquer, mais elle apparaît les jours suivants.

La température a oscillé entre 39° et 40° pour 14 cas. La courbe thermique a présenté la forme régulièrement ascendante pour 4 cas. Elle se maintient plus près de 39 que de 40 pour un cas.

La marche de la température nous manque dans 9 observations; les malades qui en sont le sujet sont morts trop rapidement, il n'y a pas de courbe; d'autre part, nous n'avons pas recueilli les feuilles de température de nos premières malades, n'en connaissant pas assez l'importance.

Ces angines sont ordinairement primitives : toutefois le

n° 24 a présenté une angine diphtérique vers la fin d'une scarlatine. Le 27 et le 29 avaient la rougeole; le 143 était tuberculeux, il a guéri de sa diphtérie, il est mort de tuberculose.

L'examen microbiologique nous a montré que dans ces observations il y avait de très nombreuses colonies sur les deux tubes : c'étaient des bacilles longs enchevêtrés, ceux décrits par Klebs-Löffler comme les vrais bacilles diphtériques.

Un seul cas fait exception, c'est le n° 143, pour lequel on a trouvé des bacilles moyens qui se disposaient parallèlement les uns aux autres; cet enfant n'a pas eu une angine grave, et l'autopsie a montré dans son poumon des lésions tuberculeuses suffisantes pour expliquer sa mort.

Dans un cas (n° 56) de gangrène de l'amygdale, nous avons fait des ensemencements sur sérum coagulé : nous n'avons pas trouvé d'autres microbes que le bacille de la diphtérie (nous n'avons pas ensemencé sur d'autres milieux); cet enfant est mort de paralysie à forme bulbaire : la veille de sa mort il se plaignait d'une douleur très vive dans l'abdomen, cette douleur a signalé le début des accidents.

Ces malades succombent ordinairement entre le 4<sup>e</sup> et le 8<sup>e</sup> jour.

#### ANGINES DIPHTÉRIQUES AVEC ASSOCIATIONS MICROBIENNES.

Parmi les angines diphtériques, il en est qui donnent à l'ensemencement sur sérum non seulement des colonies du bacille de Klebs-Löffler, mais aussi d'autres colonies microbiennes. Ces angines sont diphtériques, puisque nous y trouvons le bacille spécifique; elle se distinguent cependant des angines diphtériques que nous avons appelées pures, en ce que, sur le sérum, les colonies autres que celles du bacille de Klebs sont relativement nombreuses. Il faut alors tenir compte de ces microbes associés au bacille diphtérique, nous verrons en effet que ces angines ont des caractères spéciaux suivant que telle ou telle espèce microbienne se joint au bacille spécifique.

Nous diviserons ces angines en deux groupes :

- 1<sup>o</sup> Angines diphtériques avec streptocoques ;
- 2<sup>o</sup> Angines diphtériques avec coccus.

1° *Angines diphtériques avec streptocoques.* — Les angines où la diphtérie s'associe aux streptocoques, donnent en culture sur sérum deux sortes de colonies bien distinctes :

Des colonies déjà volumineuses après 24 heures, ordinairement isolées : ce sont des colonies de diphtérie. Entre ces colonies, si l'on regarde attentivement, on voit après 24 heures un semis très serré de colonies plus petites, transparentes : ce sont les colonies de streptocoques ; toutes les fois que sur sérum nous avons rencontré cette particularité, nous l'avons notée et nous avons ainsi réuni 10 cas.

Ces malades se présentent avec tous les symptômes qui caractérisent l'angine infectieuse : fausses membranes grises, sanguinolentes. Jetage, diarrhée. Cou proconsulaire, etc.

Une autre forme nous a particulièrement frappé : sans l'examen bactériologique nous aurions rangé les n° 17, 59 et 75 dans les angines pultacées ; l'enduit pultacé n'était pas localisé aux amygdales ; il envahissait toute la cavité buccale, le moindre attouchement provoquait un suintement sanguinolent. L'état général de ces enfants était mauvais, les ganglions étaient très volumineux et les urines contenaient de l'albumine.

Dans les 10 cas d'angines où le bacille de la diphtérie était associé aux streptocoques, la température se maintenait dans le voisinage de 40°.

Les colonies diphtériques étaient constituées par des bacilles longs dans 8 cas.

Dans deux cas nous avons trouvé le bacille moyen ; un de ces malades a guéri (166).

Le pronostic de ces angines est très grave, puisque sur dix malades nous trouvons deux guérisons et huit décès.

MM. Roux et Yersin ont déjà montré que les bacilles diphtériques, même peu virulents, causaient la mort des animaux quand ils étaient associés au streptocoque de l'érysipèle. M. Barbier, dans son mémoire <sup>1</sup>, a signalé des cas semblables à ceux que nous rapportons ; il a insisté sur la gravité des angines où le bacille est uni au streptocoque.

On ne peut pas attribuer la gravité de la maladie à une virulence spéciale des streptocoques ou du bacille diphtérique.

1. *Archives de Pathologie expérimentale*, 1891.

Nous croyons que l'union des deux microbes est surtout à accuser. En effet, nous avons vu des angines à streptocoques seules guérir six fois sur six observations; d'autre part, nous avons cultivé et isolé les bacilles diphtériques que l'on rencontre dans ces angines, et, dans deux cas que nous avons étudiés spécialement, les cultures de ces bacilles inoculées aux cobayes ont tué ces animaux 15 et 22 jours après l'inoculation; ils n'étaient donc pas très virulents et cependant les enfants sont morts.

L'observation du n° 5 nous montre que l'examen microbologique permet un diagnostic rétrospectif souvent très utile.

B... Lucien, 5 ans, entre le 26 juillet 1891 avec du jetage, de l'engorgement ganglionnaire. L'examen de la gorge est difficile, il ne fournit pas de renseignements précis. L'enfant meurt quelques heures après son entrée sans avoir été vu par le chef de service: l'interne de garde seul l'avait examiné et son diagnostic était hésitant.

A l'autopsie nous ne trouvons pas de fausses membranes, ni dans le larynx, ni dans la trachée; l'examen des muqueuses de la gorge ne nous fournit aucun renseignement précis.

Nous ensemençons 3 tubes de sérum, et, dès le lendemain, nous trouvons sur ces tubes de nombreuses colonies de diphtérie et de streptocoques.

Dans les circonstances présentes, ce diagnostic rétrospectif n'avait pas grande importance, mais supposons un cas isolé en tout semblable au précédent dans une caserne, ou dans un collège, un diagnostic tardif mais sûr conduira à prendre des mesures prophylactiques sévères, qui éviteront des épidémies meurtrières.

2° *Angines diphtériques avec coccus*. — Le premier tube, ensemencé comme nous l'avons dit plus haut, présente des colonies nombreuses, serrées, qu'il est difficile de différencier. Le deuxième tube présente des colonies plus volumineuses isolées, encore difficiles à différencier par un examen superficiel, car elles ont presque toutes les mêmes dimensions; mais, examinées par transparence, les unes offrent une opacité légère à leur centre, et leur surface est moins humide, ce sont les colonies diphtériques: les autres sont au contraire transparentes sur toute leur étendue et leur surface est humide, ce sont des colonies de coccus.



Nous avons trouvé ces angines chez des enfants dont l'état général était satisfaisant : les fausses membranes étaient blanches, peu adhérentes, peu étendues, les ganglions peu engorgés, il n'y avait pas d'albumine dans les urines ; en un mot ces angines présentaient tous les caractères d'une angine diphtérique bénigne.

Nous avons réuni dans cette classe 7 observations. 5 présentaient des bacilles longs, intriqués ; le n° 54 avait en outre des bacilles moyens ; chez le n° 176, il n'y avait que du bacille moyen.

Six de ces malades ont guéri ; un seul est mort : c'était un enfant de 2 ans, faible, amaigri, il était en traitement dans l'hôpital pour une diarrhée rebelle ; il n'a pu résister à cette nouvelle maladie.

Malgré ce décès, nous voyons que le pronostic des angines où le bacille de la diphtérie et les coccus se trouvent réunis est bénin, ce qui confirme absolument les idées de MM. Roux et Yersin qui écrivaient en 1889 (3<sup>e</sup> mémoire) : « Quelquefois, même au début de la maladie, on peut prédire une issue favorable si on constate qu'il y a peu de bacilles de la diphtérie et beaucoup d'autres microbes, notamment des coccus. » Ceci était dit pour la fausse membrane, l'étude que nous venons de faire montre qu'on peut également l'appliquer à l'examen des cultures.

L'existence de colonies de coccus est d'un pronostic favorable : plus elles sont nombreuses en comparaison des colonies diphtériques, plus sont grandes les chances de guérison. Dans la grande majorité de ces angines diphtériques à coccus dont le pronostic est bénin, le coccus que nous avons rencontré nous paraît être le même que celui que nous avons déjà décrit dans le paragraphe des angines non diphtériques à coccus, sa présence comporte une terminaison heureuse de la maladie. Lorsque le coccus uni au bacille diphtérique est le *staphylococcus albus*, la maladie est plus sévère.

---

#### ÉTUDE DES GROUPS.

Quand un malade se présente à la consultation avec des troubles laryngés, l'interne de garde s'empresse d'examiner la gorge. S'il trouve des fausses membranes, l'enfant est envoyé immédiatement au pavillon de la diphtérie ; si les fausses mem-

branes n'existent pas ou n'existent plus, le diagnostic devient beaucoup plus difficile. L'existence ou l'absence des fausses membranes change tellement les données que nous croyons devoir diviser les croups en deux classes :

1<sup>o</sup> Les croups avec fausses membranes dans la gorge ;

2<sup>o</sup> Les croups sans fausses membranes pharyngiennes au moment de l'examen.

Sur deux cents malades entrés au pavillon, nous avons trouvé 88 cas qui se sont accompagnés de troubles laryngés. Dans 54 cas il existait des fausses membranes apparentes. Dans 34 cas il n'y avait pas de fausses membranes dans la gorge.

#### CROUPS AVEC FAUSSES MEMBRANES DANS LA GORGE.

(54 CAS.)

L'examen bactériologique nous a conduit à distinguer, comme pour les angines, des croups non diphtériques, des croups diphtériques avec associations microbiennes, et des croups diphtériques purs.

1<sup>o</sup> *Croups non diphtériques* : 17 cas. — Dans une observation de croup avec angine, l'ensemencement sur sérum n'a donné à aucun moment des colonies du bacille de la diphtérie.

OBSERVATION 167. Enfant âgé de    ans, entré le 4 décembre pour une angine pseudo-membraneuse, non diphtérique, mais qui donne sur sérum de nombreuses colonies du petit coccus déjà décrit. Le 3, il a un accès de suffocation. Le 6, il rejette une fausse membrane qui contient des coccus et pas de bacilles. Malgré un tirage très prononcé, on ne fait pas la trachéotomie : bientôt les symptômes s'amendent, et l'enfant sort de l'hôpital guéri, 13 jours après son entrée, 17 jours après le début du mal.

Dans six autres observations de croups avec angines, l'ensemencement pratiqué à l'entrée des malades n'a fourni que des colonies de coccus ; quelques jours plus tard, après que les malades ont séjourné dans les salles, on a obtenu sur sérum des colonies diphtériques.

OBSERVATION 31. Gaston N., 2 ans 1/2, entré le 22 août pour une suffocation qui nécessite la trachéotomie ; en outre, on voit sur les deux amygdales des fausses membranes blanches, laiteuses, qui récidivent rapidement quand on les enlève. L'état général est bon, le teint non altéré.

Le 23 août, on ensemence la pseudo-membrane de la gorge; le 24, on voit beaucoup de colonies sur le premier tube et très peu sur le second. Ces colonies sont formées par le petit coccus. Nous n'avons donc pas affaire à un croup diphthérique. L'enfant va bien jusqu'au 28 août, la température est régulièrement descendante. Le 28, elle s'élève de deux dixièmes de degré, l'enfant a un peu de malaise, on fait une nouvelle prise dans la gorge. Au milieu d'un grand nombre de colonies de coccus, on trouve quelques rares colonies diphthériques (on n'a pas éprouvé leur virulence). Le 30 août, l'enfant va mieux, la température descend à la normale, il sort guéri 20 jours après son entrée.

OBSERVATION 34. Mol., 2 ans 1/2, malade depuis le 22, entre au pavillon le 24 août pour du croup avec suffocation intense : on fait la trachéotomie. Sur les deux amygdales il y des fausses membranes blanches, noires, peu adhérentes. La température se maintient entre 39° et 40°. Le 25 août on ensemence les fausses membranes de la gorge. Le 26, il ne s'est développé que des colonies de coccus. On fait un nouvel ensemencement le 27 août; il n'y a que des coccus sur le premier tube de sérum; sur le second tube il y a 3 colonies diphthériques. L'enfant rejette une fausse membrane par la canule, elle contient des coccus en grand nombre, quelques streptocoques et très peu de bacilles très semblables au bacille de Klebs. Le 28 août, on fait un 3<sup>e</sup> ensemencement. Le 29, on constate qu'il y a sur le sérum de nombreuses colonies de diphthérie. L'enfant succombe le même jour.

Les observations 100, 192 et 199 sont calquées sur la précédente; elles concernent aussi des enfants atteints de croups avec angine. Les ensemencements pratiqués à leur arrivée ne donnent que des coccus, ceux qui ont été faits quelques jours après ont fourni des colonies diphthériques, et les petits malades ont tous succombé. Il ne nous paraît pas douteux que ces enfants aient été contaminés dans le service. Ces contagions intérieures sont assez rares chez ceux qui ont été admis au pavillon pour des angines non diphthériques, elles sont bien plus fréquentes à la suite de ces croups à coccus qui ont nécessité la trachéotomie.

OBSERVATION. N° 71. Enfant, entré une première fois le 22 septembre 1891 pour un croup qui nécessite la trachéotomie. L'ensemencement n'a donné que des coccus. L'enfant va bien. Le 4<sup>er</sup> octobre, son frère est reçu au pavillon, il a une angine diphthérique vraie. Nous faisons alors une nouvelle prise de semence. Nous n'obtenons que des coccus. Les deux frères sortent guéris et jouent ensemble pendant leur convalescence. Le 24 octobre, le premier est ramené à l'hôpital, on lui fait une seconde trachéotomie et l'ensemencement sur sérum prouve que cette fois il est atteint de diphthérie, guérit cependant.

Ces faits nous enseignent que tous les croups ne sont pas

diphthériques. Les coccus qui produisent des fausses membranes dans la gorge peuvent en faire dans le larynx et la trachée, et provoquer tous les symptômes des croups dus au bacille de Klebs-Löffler<sup>1</sup>. L'examen bactériologique permettra bien vite la distinction, et aussitôt que le médecin sera fixé, il devra éviter de laisser ces croups à coccus au milieu des malades de diphthérie, surtout s'ils ont été trachéotomisés.

*2° Croups diphthériques avec associations microbiennes, 13 cas.* — Dans les 13 observations où le bacille diphthérique était associé à d'autres microbes, nous trouvons 4 cas d'association avec les streptocoques, 9 cas d'association avec d'autres coccus.

*Croups diphthériques avec streptocoques.* — L'état général est mauvais, les fausses membranes sont grisâtres, elles recouvrent les amygdales, les piliers, la luette, simulent parfois un enduit pultacé qui envahit la voûte palatine. Il y a du jetage, de la diarrhée, une adénite œdémateuse, le cou proconsulaire type; les urines contiennent de l'albumine. Ce sont des enfants que l'on ne peut opérer à cause de leur mauvais état.

La courbe de température évolue entre 39°-40° pour tous ces malades.

Ils sont tous morts : les n<sup>os</sup> 16, 98 et 144 après deux jours de maladie, le 77 après 4 jours.

L'examen bactériologique a montré des bacilles diphthériques types; leurs colonies sont nombreuses. Il existe également de nombreuses colonies de streptocoques. Le n<sup>o</sup> 98 avait la rougeole quand il est tombé malade; au microscope, nous ne trouvons que du bacille moyen.

En résumé, les croups où il y a association du bacille diphthérique et de streptocoques, présentent les mêmes symptômes que les angines analogues. Remarquons que nous avons 10 cas d'angine et nous n'avons que 4 cas de croup : les angines tuent ordinairement le malade rapidement avant les complications laryngées.

*Croups diphthériques avec coccus.* — Nous observerons le con-

1. Voir à ce sujet le 3<sup>e</sup> mémoire de MM. Roux et Yersin. Ces *Annales*, juillet 1890.



traire pour les associations de la diphtérie avec des coccus : nous avons trouvé 7 angines, et nous avons 9 croups, par conséquent plus de croups que d'angines simples.

Tous ont guéri sauf un, chez lequel nous avons trouvé surtout de la diphtérie et peu de coccus.

Ces enfants ont d'abord de l'angine ; vers le 3<sup>e</sup> ou 4<sup>e</sup> jour les symptômes laryngés apparaissent. Ces symptômes nécessitent souvent la trachéotomie : 6 fois sur 9 ; 3 malades ont guéri sans trachéotomie. La température est élevée au début, puis décrit des oscillations régulièrement descendantes. Ces enfants sont complètement rétablis 15 ou 20 jours après le début de leur maladie.

3<sup>e</sup> *Croups avec angines diphtériques pures.* — Pour terminer l'étude des croups avec fausses membranes, nous devons examiner les 34 observations où le bacille diphtérique existait seul. 18 de ces malades sont morts et 16 ont guéri ; pour les angines analogues nous avons 28 décès, 24 guérisons, ce qui montre que dans ces cas les décès l'emportent sur les guérisons.

Les 18 malades décédés présentaient des angines graves avec fausses membranes épaisses récidivant rapidement. Les ganglions étaient engorgés, très peu dans quelques cas. Il y a rarement du jetage, l'albumine existe presque toujours dans les urines.

La courbe thermométrique évolue entre 39° et 40° ; le soir, le thermomètre marque 39°6, 39°8, et le jour du décès il atteint ordinairement 40°.

Nous n'avons pas ici de courbes régulièrement ascendantes, car la température est presque toujours élevée au moment de l'opération.

Ces malades meurent rapidement, le 2<sup>e</sup> ou le 3<sup>e</sup> jour après leur opération, au plus tard le 4<sup>e</sup> jour.

Il faut faire une exception pour le n° 15, qui est resté 20 jours à l'hôpital, cet enfant a eu de la gangrène de la trachée ; pendant tout ce temps la température du soir n'est jamais descendue au-dessous de 39°, preuve manifeste que son état ne s'améliorait pas. L'examen microbiologique montre des colonies diphtériques nombreuses sur les 2 tubes de sérum, constituées par des bacilles longs, intriqués.

Dans les 16 cas qui ont guéri nous avons noté un état général ordinairement assez bon. Les fausses membranes recou-

vrent les amygdales, quelquefois la luette, elles sont épaisses et récidivent les premiers jours.

Les ganglions sont tuméfiés, mais autour d'eux il n'existe pas d'œdème. Il n'y a pas toujours de l'albumine dans les urines.

La courbe thermométrique est assez semblable dans tous ces cas; les 3 jours qui suivent l'opération, la température n'augmente ni ne diminue, elle reste entre 39° et 40°, puis vers le 3<sup>e</sup> ou le 4<sup>e</sup> jour la température descend régulièrement, la chute brusque est rare. 11 de ces malades ont été opérés, ils ont conservé leur canule de 10 à 12 jours.

5 n'ont pas subi l'opération après avoir présenté des troubles laryngés accentués.

Ces malades restent une vingtaine de jours à l'hôpital.

L'examen bactériologique nous montre des colonies nombreuses sur les deux tubes ensemencés, formées par des bacilles longs dans 9 cas, par des bacilles moyens ou courts dans 2 cas. Le n° 66 a présenté une diphtérie très lente, les complications laryngées sont survenues le 15<sup>e</sup> jour, et la courbe thermométrique a été peu élevée, évoluant entre 38° et 39° pendant 5 jours pour tomber brusquement à la normale.

Le n° 150 entre, une première fois, le 24 novembre, avec de la toux rauque et du tirage. Il guérit sans trachéotomie et sort le 4 décembre, mais il revient le 17 décembre avec une angine diphtérique qui guérit après 5 jours de traitement. En résumé, ces croups, comparés aux angines qui guérissent, présentent plus de gravité; le pronostic est pendant quelques jours incertain, mais l'état s'améliore vers le 3<sup>e</sup> jour qui suit l'opération.

Si nous reprenons rapidement ces 54 observations de croups avec fausses membranes, nous voyons que le diagnostic clinique est généralement facile. Cependant l'examen bactériologique accuse une erreur sur 7 malades.

Il y a grand intérêt à ne pas conserver au milieu des enfants diphtériques ceux qui ont des croups à coccus. Isolés, ils guérissent; contaminés par le bacille diphtérique, ils succombent presque toujours.

#### CROUPS SANS FAUSSES MEMBRANES DANS LA GORGE.

L'ensemencement sur sérum du mucus pharyngien, alors même qu'il n'existe pas de fausses membranes dans la gorge,

permet souvent de déceler en quelques heures la présence du bacille diphtérique et d'assurer le diagnostic qui serait hésitant sans l'examen bactériologique.

Nous avons observé 34 croups sans fausses membranes dans la gorge : 21 étaient diphtériques, 12 ne l'étaient pas.

*Croups diphtériques (21 cas).* — Sept étaient faciles à reconnaître comme diphtériques par l'examen clinique.

Ces malades entrent à l'hôpital avec du tirage, de la toux voilée, la voix est éteinte; l'examen de la gorge ne montre aucune fausse membrane, mais les parents racontent que leur enfant a une angine depuis 6 à 8 jours, qu'il a rendu des fausses membranes, et les amygdales sont encore grosses, rouges, ulcérées, irrégulières.

Tous ces malades n'ont pas été opérés, deux sur sept ont échappé à l'opération.

Tous ont guéri, sauf le n° 180.

La courbe de température est régulièrement descendante, à l'exception du 180 où elle est ascendante; l'enfant meurt avec 40°2. A l'examen bactériologique nous trouvons des colonies nombreuses et typiques du bacille diphtérique long.

Les 14 autres cas de croups diphtériques nous donnent des observations très différentes; un diagnostic clinique est difficile.

Nous avons par exemple le n° 2, qui entre une première fois au pavillon de la diphtérie le 22 juillet, pour des phénomènes de suffocation.

Le 23, 24 juillet, l'enfant se porte très bien;

Le 25 juillet, on le renvoie;

Le 25 au soir, il revient avec un tirage très accentué, il est opéré et meurt le 27.

Dès le 26, nous faisons un ensemencement; le 27 juillet nous trouvons sur sérum de nombreuses colonies de bacilles diphtériques.

Pour le n° 133, l'erreur de diagnostic produit d'autres résultats. Le malade est très bien examiné, il y a probabilité qu'il a du croup diphtérique, mais l'hésitation est possible, et comme on craint d'envoyer dans un milieu contaminé un malade non diphtérique, l'enfant est reçu dans les salles communes, et il meurt 18 heures après son admission. Dès son entrée, nous

avons ensemencé deux tubes de sérum, et au moment de sa mort nous savions déjà qu'il mourait de diphtérie : le résultat a été vérifié à l'autopsie.

Les n° 33 et 198 viennent du pavillon de la rougeole, ils n'ont rien dans la gorge. A t-on affaire à un croup diphtérique ou à une laryngite rubéolique ? Il eût été difficile de le dire sans les cultures. Dans les deux cas nous trouvons de très nombreuses colonies de bacille type long. Les deux enfants sont morts.

Le n° 83 a la coqueluche et des troubles laryngés, l'examen montre que l'on a affaire à de la diphtérie, l'enfant meurt.

Le n° 101 présente tous les symptômes d'une broncho-pneumonie, sans troubles laryngés marqués. Les cultures sont nettement diphtériques, l'enfant meurt.

Les numéros 148, 161, 162, 196 n'ont pas de fausses membranes, deux meurent : 148 et 196, deux guérissent : 161 et 162.

Le 161 avait des bacilles courts. Le 162 des cocci et des bacilles.

Les n°s 8, 45, 104 présentent ceci de particulier que leur état général est bon au début, leur courbe est d'abord régulièrement descendante, puis elle s'élève subitement comme si une infection nouvelle venait compliquer la première, et ils meurent alors que leur bon état des premiers jours a failli les faire renvoyer.

Reste le n° 37, c'est un enfant de trois ans d'une très bonne santé. Nous le trouvons à la consultation, où il avait été envoyé par M. X., ancien interne, avec le diagnostic de croup inflammatoire ? Ce diagnostic éveille notre attention et nous trouvons que la maladie a débuté brusquement par un accès de suffocation pendant la nuit. Depuis quatre jours, la respiration est difficile ; mais la toux est bruyante, la voix est conservée, l'arrière-gorge est rouge, et c'est tout. Ne pouvant isoler l'enfant, ne trouvant pas la trachéotomie urgente, nous conseillons aux parents de remporter leur enfant ; mais avant son départ nous ensemençons deux tubes de sérum. Sur ces deux tubes nous trouvons le lendemain de très nombreuses colonies qui présentent tous les caractères des colonies diphtériques. A l'examen microscopique nous ne trouvons pas le bacille long ni le moyen, mais un bacille court et gros. Sur les conseils de M. Roux, nous portâmes le diagnostic de diphtérie très bénigne. L'enfant a guéri, mais un mois après il a eu un peu d'enrouement sans suffocation.



Nous espérons qu'après avoir lu les observations qui précèdent, personne ne trouvera notre titre exagéré, ce sont bien des diphtéries dont le diagnostic est très difficile cliniquement.

C'est dans ces cas que la bactériologie rend de réels services. Elle en rend de meilleurs encore en présence des croups non diphtériques que la clinique est véritablement impuissante à distinguer.

*Croups non diphtériques (12 cas).* — Le malade entre pour de la toux rauque, parfois du tirage, la voix est ordinairement conservée en partie, mais ce qui rend le diagnostic difficile, c'est qu'on trouve des amygdales tuméfiées, déchiquetées, les ganglions sont peu ou pas engorgés. Ces accidents débute souvent sans prodromes, ils s'amendent rapidement. Il ne faut pas se presser de faire la trachéotomie, on peut presque toujours l'éviter. Aucun de nos malades n'y a été soumis.

A l'examen microbiologique on trouve le plus souvent des cocci (surtout le petit coccus que nous avons décrit à propos des angines), soit seuls, soit associés aux streptocoques.

Ces enfants ont été, dans la majorité des cas, renvoyés après 48 heures, et aucun d'eux n'a pris la diphtérie. Tous ont guéri sauf un, le n° 163, qui venait du pavillon de la rougeole avec une dyspnée intense; nous avons trouvé sur sérum des colonies de staphylocoques et de streptocoques, et cet enfant est mort de broncho-pneumonie.

Un autre rubéolique, le n° 78, a présenté des troubles respiratoires; il a eu aussi une broncho-pneumonie, mais il a guéri.

Il y a urgence à éloigner ces petits malades du pavillon des diphtériques, si on ne veut pas transformer leur affection bénigne en affection grave.

Quand nous avons entrepris ce travail, nous avions simplement pour but de rechercher dans quelle mesure la bactériologie pouvait aider la clinique dans le diagnostic de la diphtérie. Notre conviction a été bientôt faite. Le clinicien le plus habile se trompe environ une fois sur cinq, soit qu'il prenne pour diphtérique une angine qui ne l'est pas, soit qu'il ne reconnaisse pas une diphtérie qui existe cependant. Les recherches bactériolo-

giques sont si fécondes que, chemin faisant, nous avons rencontré beaucoup de faits intéressants qui mériteraient d'être approfondis, notamment l'histoire clinique et bactériologique de ces angines pseudo-membraneuses non diphtériques. Les microbes jouent un rôle prépondérant dans les affections de la gorge. C'est la bactériologie qui éclaircira la question des angines, leurs caractères cliniques sont insuffisants pour les distinguer.

Nous tirerons de ce qui précède les conclusions suivantes :

Beaucoup d'angines à fausses membranes et de croups sont confondus avec la diphtérie.

L'examen bactériologique nous fournit les moyens les plus sûrs et les plus rapides pour faire le diagnostic précis de la diphtérie.

Il y a des diphtéries pures et des diphtéries à associations microbiennes.

Parmi les diphtéries à associations microbiennes, celles où on trouve le streptocoque sont les plus graves. Celles où on trouve certains cocci sont les plus bénignes.

La marche de la température nous donne un excellent moyen d'établir le pronostic.

---

# SUR LA DIFFÉRENCIATION DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES

PAR M. DUCLAUX.

---

Les arguments que j'ai opposés, dans ce volume (p. 199 et 274), aux méthodes actuelles de différenciation des matières albuminoïdes, me paraissent suffisants pour démontrer qu'il n'y a rien de bon à attendre de ces méthodes : elles conduisent à donner le même nom à des substances différentes, des noms différents à la même substance. Mais l'argumentation deviendrait évidemment beaucoup plus persuasive, s'il était possible de trouver une matière notoirement homogène, bien caractérisée au point de vue chimique, et qui se comporterait vis-à-vis des sels neutres comme les matières albuminoïdes, c'est-à-dire se précipiterait de ses dissolutions par *à-coups*, comme nous avons vu que le font l'albumine, la fibrine, la caséine étudiées dans les dernières *Revue critique*.

Dans cet ordre d'idées, j'ai d'abord cherché du côté de la silice gélatineuse, obtenue par les méthodes de Graham, et qui se comporte, en effet, vis-à-vis des sels neutres, comme l'albumine et la plupart des corps colloïdaux. Mais, précisément parce que ce corps est colloïdal, on aurait pu contester son homogénéité initiale ; il est certain qu'il y en a une portion qui filtre et une autre qui s'arrête au travers d'un filtre de porcelaine. Il valait mieux s'adresser à un corps cristallisé, pouvant entrer en solution complète dans l'eau.

En songeant que les alcaloïdes végétaux ont les mêmes réactifs généraux que les matières albuminoïdes, et présentent dès lors avec elles des ressemblances éloignées, mais certaines, en me rappelant en outre que M. Carles avait signalé l'insolubilité presque complète du sulfate de quinine dans le sulfate d'ammoniaque, j'ai eu l'idée d'essayer l'action des sels neutres sur les alcaloïdes et leurs sels.

Les phénomènes qu'on rencontre dans cette étude sont tout à fait comparables à ceux que présentent, dans les mêmes conditions, les matières albuminoïdes, c'est-à-dire que les solutions des alcaloïdes les plus variés, même de ceux qui sont les moins solubles, peuvent être précipitées par le même sel neutre, et que le même sel d'alcaloïde peut être précipité par les sels les plus variés. Pour prendre un exemple se rapportant au sel étudié par M. Carles, la dissolution saturée de sulfate de quinine, qui renferme au moins deux grammes de sel par litre, précipite par les sulfates de potassium, de sodium, d'ammonium, de magnésium et même de calcium. Je reviendrai plus tard sur l'importance de ce dernier fait, qui permet, joint à d'autres caractères, de rapprocher, conformément à la thèse que j'ai toujours soutenue, ces phénomènes de précipitation des phénomènes de coagulation de la caséine ou de la fibrine du sang. Je ne veux, pour aujourd'hui, que viser les ressemblances entre les modes d'action des sels neutres sur les alcaloïdes et les matières albuminoïdes.

Voici une autre ressemblance. Pour la mettre dans tout son jour, je demande la permission de l'interpréter avec les idées actuelles sur la différenciation des matières albuminoïdes. Prenons une solution de sulfate de quinine faite à froid, et si elle est saturée, versons-y environ 1/10 d'eau, de façon à la diluer légèrement. Ajoutons alors peu à peu à ce liquide du sulfate d'ammoniaque ou du sulfate de magnésie en poudre fine, de façon à ce que la dissolution du sel soit rapide. Les premières additions ne produiront aucun effet. Puis brusquement, lorsque la concentration aura atteint un certain degré, nous verrons se former dans la masse de petits cristaux aciculaires qui iront en augmentant de nombre et de longueur, s'enchevêtreront et formeront feutrage, comme M. Carles l'avait déjà remarqué. Le phénomène rappelle à la fois la cristallisation d'une solution sursaturée et la coagulation du lait ou du sang, et je montrera en effet bientôt qu'il est intermédiaire entre les deux. Quoi qu'il en soit, lorsque les cristaux n'augmentent plus d'une façon visible, jetons le liquide sur un filtre. Celui-ci retient un dépôt solide qui, obtenu par de faibles doses de sel neutre, peut être rapproché des dépôts provoqués dans les matières albuminoïdes par de faibles doses de sels précipitants. Si on se croit autorisé



à ranger dans une catégorie spéciale et à appeler *nucléo-albumines* les albumines précipitées dans ces conditions, on ne peut nous contester le droit d'appeler sulfate de *nucléo-quinine*, le précipité cristallin obtenu par les mêmes méthodes et pour des doses de sel qu'on peut rendre aussi les mêmes, à la condition de disposer convenablement de la concentration initiale de la solution de sulfate de quinine sur laquelle on opère. La proportion de sulfate d'ammonium ou de magnésium, nécessaire pour produire ce premier précipité, sera d'autant plus grande que la solution était originairement moins concentrée.

Ce n'est pas tout. Reprenons le liquide filtré, et continuons à y ajouter du sel. Nous verrons ces additions rester d'abord sans effet, surtout si le sel ajouté, finement pulvérisé, se dissout vite, et si on agite, de façon à ce que la concentration de la liqueur soit rapidement uniformisée. Puis, à un moment donné, et pour un degré de concentration qu'on peut rendre voisin de celui qui provoque le dépôt des *globulines* dans l'albumine d'œuf, on obtiendra un précipité nouveau que rien ne nous empêchera, si nous avons confiance dans la méthode de précipitation, d'appeler sulfate de *globulo-quinine*.

Sans insister davantage, nous pouvons dire qu'on pourra obtenir de même, après une période de non précipitation, un troisième précipité qu'on sera libre de décorer si on veut du nom de sulfate d'*albumo-quinine*, par analogie avec les *albumines* de la classification usuelle, c'est-à-dire la portion de matière que précipitent les solutions de sel les plus concentrées. On pourra même, si on est partisan de ces dichotomisations à outrance, établir un plus grand nombre de divisions, car l'addition du sulfate d'ammoniaque à une solution concentrée de sulfate de quinine permet d'obtenir six stades de précipitation, séparés par autant d'intervalles pendant lesquels l'addition de sel ne trouble nullement la liqueur. Voilà donc, si on le veut, six membres de la famille du sulfate de quinine.

Ce chiffre n'est pas le même avec tous les sels neutres, et on reste ainsi maître de réduire ou d'augmenter le nombre de ces frères Siamois. Il se réduit aussi si on étend la dissolution, et pour montrer encore mieux ce qu'il y a d'incertain et d'illusoire dans la théorie qui donne un nom spécifique à chacun des précipités obtenus, appliquons cette théorie à l'interprétation du fait

suivant : Une solution presque saturée de sulfate de quinine, additionnée de sulfate de magnésie, donne son premier dépôt vers 10 0/0 de sel ; quand elle est étendue de son volume d'eau, elle ne commence à précipiter que vers 30 0/0 de sel. Si nous acceptons la différenciation des précipités, nous devons dire que la dilution de la liqueur a fait disparaître les *globulo-quinines* et les a transformées en *albumo-quinines*.

Notons que tous ces précipités, à quelque zone de précipitation qu'ils appartiennent, sont des cristaux aciculaires de sulfate neutre, ne retenant aucune part appréciable du sel qui en provoque le dépôt. Ils en emportent ce qu'un cristal quelconque emporte de ses eaux-mères, mais il n'y a aucune combinaison chimique à proprement parler. Les lois qui président à leur formation ressemblent en effet sur plusieurs points aux lois ordinaires de la cristallisation, si elles en diffèrent sous certains autres, en particulier par ce fait que le dépôt d'un sel dans une liqueur non sursaturée est d'ordinaire un phénomène continu, tandis qu'ici, il passe brusquement par plusieurs maxima et minima successifs, par suite d'une certaine inertie à la cristallisation qui rappelle tout à fait l'inertie à la coagulation que présentent les matières albuminoïdes.

Je reviendrai bientôt sur l'explication de ces faits, dont je veux seulement signaler ici une des conséquences. On sait l'importance croissante qu'ont pris récemment dans la science les toxines microbiennes. En les étudiant, et en cherchant à les séparer des liquides qui les contiennent, on a vu qu'elles se précipitaient parfois comme si elles étaient des globulines, ou des albumines, etc., et on en a fait des albumotoxines, des globulotoxines, des toxopeptones, etc. Les faits qui précèdent montrent que du sulfate de quinine, de strychnine, de brucine, bref un alcaloïde très toxique, qui serait en dissolution dans un liquide albumineux, pourrait se précipiter avec l'albumine, sous l'influence des sels neutres, ne pas pouvoir en être isolé s'il est en faible quantité, difficilement cristallisable, ou noyé dans un excès d'albumine, et cependant, en rester distinct, et n'être pas plus une toxalbumine que l'albumine précipitée avec lui n'est une matière toxique. C'est un point de vue que nous avons toujours préconisé dans ces *Annales*.

On voit en outre, par ce qui précède, que dans le cas où il y

a une matière alcaloïdique à précipiter (et nous pouvons dire de suite qu'il en est de même dans le cas d'une diastase), la même dose de sel ne sera pas toujours suffisante, puisque la concentration de la solution saline précipitante dépend de la dilution initiale de la matière à précipiter. Le même traitement, surtout s'il est appliqué à l'aveuglette, avec une confiance exagérée dans son formulaire, ne donnera donc pas toujours le même résultat avec toutes les cultures d'un même microbe, et c'est là encore une explication possible pour une foule de contradictions qu'on pourrait relever dans les travaux de ces dernières années.

Je ne veux pas pousser plus loin, pour le moment, l'examen des causes et des conséquences de ces phénomènes, sur lesquels je reviendrai. Je n'ai voulu leur demander qu'un argument contre la méthode en honneur aujourd'hui, pour l'étude des matières albuminoïdes, des albumoses et des peptones. En segmentant à l'infini, on ne se rapproche pas de la réalité, on s'en éloigne. Je ne veux pas dire qu'il n'y ait qu'une seule matière albuminoïde; je crois au contraire qu'il y en a beaucoup, mais je crois aussi que l'imagination de l'homme et une mauvaise méthode de travail en ont créé encore davantage, et que les espèces qu'on nous présente comme chimiques sont le plus souvent des espèces chimériques.

---

# SUR QUELQUES MÉLANGES ANTISEPTIQUES

## ET LEUR VALEUR MICROBICIDE

PAR M. LE D<sup>r</sup> J. DE CHRISTMAS.

(Travail du laboratoire de chimie biologique à l'Institut Pasteur.)

La possibilité d'augmenter la force microbicide des antiseptiques en les mélangeant entre eux a été entrevue par plusieurs savants. C'est ainsi que M. Bouchard a trouvé qu'on peut tirer bénéfice de la combinaison de différentes substances antiseptiques, et qu'on peut arriver à doubler leur pouvoir antiseptique, sans que pour cela leur toxicité augmente dans les mêmes proportions<sup>1</sup>. M. Hammer qui a étudié, tout particulièrement, les divers crésols, a trouvé que leur mélange augmente leur force antiseptique<sup>2</sup>. Rotterer<sup>3</sup> a suivi la même idée en composant des pastilles antiseptiques, dont l'effet pourtant paraît bien faible d'après les essais qu'on en a fait en Allemagne. Laplace<sup>4</sup> a mélangé différents acides, l'acide tartrique, l'acide sulfurique, avec le sublimé et l'acide phénique, et il a obtenu par ce moyen des composés dont la force microbicide a été augmentée considérablement.

Dans un travail antérieur, nous avons donné<sup>5</sup> les formules de quelques mélanges antiseptiques qui tous montraient ce même phénomène : augmentation de la puissance microbicide du nouveau corps par rapport à celle de chacune des substances employées isolément. Ce fait est d'une certaine importance pra-

1. BOUCHARD, *Leçons sur les autointoxications*. Paris, 1887, p. 212.

2. *Archiv. f. Hygiene*, 1891, Bd 12, p. 370.

3. *Centralblatt f. Chirurgie*, 1888, n<sup>o</sup> 40.

4. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1887-1888.

5. CHRISTMAS et RESPAUT. Note sur les antiseptiques composés. *Comptes rendus de la Société de biologie*, 23 janvier 1892.



tique, non seulement au point de vue économique, puisque l'augmentation de la force antiseptique permet de diminuer la quantité de substance, mais aussi au point de vue clinique, s'il était démontré que ces mélanges, tout en étant plus antiseptiques, sont en même temps moins toxiques que les substances prises isolément. Cette dernière question ne nous occupera pas aujourd'hui, où nous traitons exclusivement de la force microbicide de ces mélanges sur les microorganismes *in vitro*.

Avant d'entrer dans le détail des combinaisons, il serait utile d'être fixé sur ce qu'on appelle la valeur microbicide des antiseptiques. Malgré toutes les recherches récentes sur ces substances, il n'existe pas encore de procédé universellement adopté pour mesurer leur valeur microbicide. Les méthodes employées pour la déterminer sont tellement différentes entre elles, et ont porté sur des milieux de composition chimique si diverse, qu'il devient impossible de les comparer. Des procédés primitifs, consistant à mesurer la force antiseptique d'une substance par la quantité nécessaire pour empêcher l'urine de se corrompre ou pour faire disparaître l'odeur du sang putréfié, on a passé à des méthodes plus exactes, dans lesquelles on faisait agir directement les solutions à essayer sur des germes en culture pure, desséchés sur des fils de soie. Mais voilà que ce procédé, qui semblait si exact il y a dix ans, s'est montré tout à fait défectueux, car non seulement les germes desséchés dans les interstices du fil de soie se dérobaient à l'influence même prolongée de la solution antiseptique, mais il devient impossible de se débarrasser à un moment donné des dernières traces de cette solution, qui continue à exercer son influence après un lavage soigneux. C'est ainsi que Geppert<sup>1</sup> a démontré qu'il fallait beaucoup rabattre de la fameuse force antiseptique du sublimé sur les spores du charbon, qui, d'après les expériences de Koch, étaient tuées au bout de quelques minutes par une solution à un pour mille. Ce résultat, qui a mis en vogue un antiseptique des plus dangereux et des plus toxiques pour la cellule vivante, était dû à des traces de sublimé restant sur les fils de soie, même après le lavage le plus minutieux, et en présence duquel la spore semble morte, alors qu'elle est seulement entravée dans son développement. Geppert a démontré que si on

1. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1890.

fait disparaître ces traces de sublimé par des moyens chimiques, la spore se développe encore après un séjour de 48 à 70 heures dans la solution à 1 p. 1,000.

Une autre question des plus importantes, quand il s'agit de fixer en chiffres la valeur antiseptique d'une substance, est celle du choix du microorganisme sur lequel on fait agir la substance. Depuis que M. Koch a démontré la résistance extraordinaire des spores de la bactériodie, presque tous les auteurs ont employé cette résistance comme mesure pour ainsi dire officielle de la valeur des substances antiseptiques. On peut sans exagération qualifier ce choix de très malheureux, et cela pour plusieurs raisons. Si vraiment le chirurgien ne pouvait se fier qu'aux antiseptiques capables de tuer les spores charbonneuses, il serait bien embarrassé, car *aucun des antiseptiques connus jusqu'à ce jour n'est capable de tuer ces spores qu'à un degré de concentration qui le rend dangereux pour l'organisme*, ou après un temps démesurément long. Ainsi, pour ne donner qu'un exemple, on peut laisser des spores de charbon dans une solution à 2 0/0 d'acide phénique pendant un mois, sans qu'elles subissent la moindre altération dans leur vitalité. Pour les tuer il faut une solution à 5 0/0, beaucoup trop caustique pour l'usage chirurgical, et encore faut-il les y plonger pendant 8 jours au moins. Ce qui n'empêche pas que l'acide phénique ne soit un excellent antiseptique.

Le choix des spores charbonneuses est d'autant moins justifié au point de vue chirurgical, que la contamination des instruments, etc., par ce microorganisme est excessivement rare. Le choix du bacille charbonneux à l'état végétatif ne vaut guère mieux, car sa résistance est bien inférieure à celle de la plupart des autres microbes pathogènes, qui ne sont même pas entravés dans leur développement par une concentration qui tue la bactériodie. La comparaison de la résistance des principaux microorganismes pathogènes démontre que le staphylocoque jaune de la suppuration est de beaucoup le plus résistant (fig. 2).

La valeur des antiseptiques se mesurerait donc bien par la quantité de substance qu'il faut employer pour tuer ce microbe. d'autant plus qu'il ne forme pas de spores, et que sa résistance n'est pas sensiblement modifiée par l'âge.

Quel procédé doit-on suivre pour se rendre compte de la

valeur microbicide absolue d'un antiseptique? Le seul qui puisse donner des résultats justes est évidemment celui qui met les microbes en contact immédiat avec la substance en solution, et qui les en débarrasse d'une manière aussi complète que possible avant de les ensemençer dans un milieu approprié. Toute autre méthode basée sur le desséchement des microbes sur fil de soie, papier, etc., ne peut donner que des résultats erronés pour les raisons déjà mentionnées.

C'est Yersin<sup>1</sup> qui le premier a indiqué une méthode donnant toutes les garanties nécessaires. Il mélangeait une faible quantité d'une culture en bouillon du microbe en question avec une grande quantité de la solution antiseptique. Après un séjour plus ou moins prolongé, quelques gouttes de ce mélange étaient diluées avec une certaine quantité d'eau stérile et puis ensemençées dans du bouillon. De cette manière, on était assuré du contact immédiat du microbe avec l'antiseptique, le temps d'action était connu, et le microbe était débarrassé presque complètement de la substance antiseptique par le lavage dans l'eau et l'ensemencement suivant dans une quantité relativement grande de bouillon. L'innocuité des traces d'antiseptique apportées dans ce dernier bouillon de culture, était facilement démontrée par des expériences de contrôle. Le seul côté faible de ce procédé est ce transport des microbes de la solution antiseptique dans de l'eau. Depuis qu'on sait combien le changement brusque de milieu peut devenir funeste pour les microorganismes, on doit craindre que des germes affaiblis, et non tués par la solution antiseptique, ne soient tués par le lavage à l'eau. Mais on n'a qu'à substituer du bouillon à l'eau pour que cette objection disparaisse.

Ce procédé nous donne une mesure assez exacte de la valeur microbicide des antiseptiques, qui est évaluée par la quantité de substance nécessaire pour tuer le staphylocoque doré au bout d'un contact d'une minute, en laissant agir une quantité de liquide connue, 10 c. c., sur une ou deux gouttes d'une culture fraîche dans du bouillon. La température de la solution doit être de 15 à 20°. Une telle méthode de mesure, si elle était généralement adoptée, serait d'un grand avantage : elle nous éviterait bien des

1. De l'action de quelques antiseptiques et de la chaleur sur le bacille de la tuberculose. Ces *Annales*, vol. 2, 1888, p. 60.

méprises regrettables dans l'estimation des antiseptiques au point de vue bactéricide. C'est d'elle que nous nous sommes servi dans nos essais sur les mélanges antiseptiques.

Le nombre des combinaisons de substances antiseptiques, quoique grand, est limité par la nécessité de n'employer que des substances dont le mélange soit soluble dans l'eau. Les formules que nous avons déjà indiquées <sup>1</sup> remplissent toutes cette condition, et montrent toutes le même phénomène de l'augmentation du pouvoir antiseptique par le mélange. Nous ne voulons pas fatiguer le lecteur avec l'énumération des nombreuses combinaisons que nous avons essayées. Il suffit de dire que la base de presque tous ces mélanges est la combinaison entre l'acide phénique et l'acide salicylique. La présence du phénol augmente la solubilité de l'acide salicylique dans l'eau, et c'est probablement en grande partie à ce phénomène qu'il faut attribuer l'augmentation de la force antiseptique de ce mélange, qui est presque le double de celle de ses deux éléments pris isolément. Le pouvoir antiseptique est encore augmenté si on ajoute une petite quantité d'un acide organique : de l'acide lactique, citrique ou oxalique.

Voici la formule du mélange qui nous a paru le meilleur sous le rapport de sa solubilité et son pouvoir antiseptique :

Acide phénique . . . . .	9 grammes.
Acide salicylique. . . . .	1 —
Acide lactique . . . . .	2 —
Menthol . . . . .	0,10 centigr.

Ce mélange, qu'on prépare en chauffant les trois acides jusqu'à liquéfaction, est très soluble dans la glycérine. Il se dissout facilement dans l'eau jusqu'à la proportion de 4 0/0. Son pouvoir antiseptique est considérable et n'est dépassé que par celui des sels de mercure.

Le tableau suivant (fig. 1) donne la valeur microbicide de quelques-uns des antiseptiques les plus usités. Il indique en millièmes la quantité de substance en solution aqueuse néces-

1. *Lac. cit.*



saire pour tuer le *staphylococcus aureus* après un contact d'une minute selon le procédé indiqué tout à l'heure.

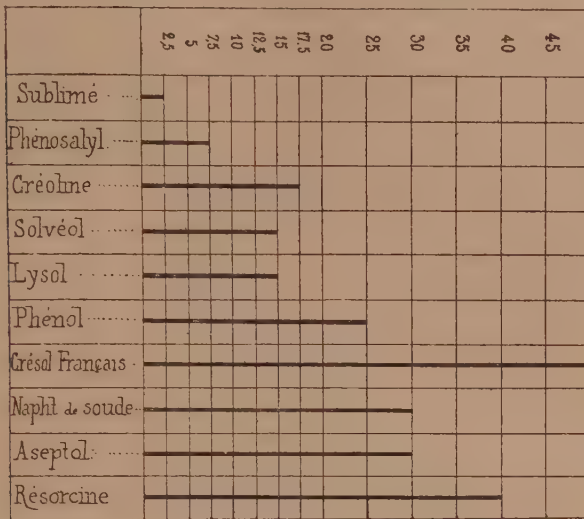


Fig. 1.

On voit combien l'addition de petites quantités de certaines substances à l'acide phénique augmente son pouvoir bactéricide, car on obtient avec ce mélange, auquel nous donnons le nom de *Phénosalyl*, une force antiseptique plus de trois fois plus grande qu'avec l'acide phénique<sup>1</sup>.

Le diagramme ci-dessus permet de faire une comparaison assez exacte entre quelques-uns des antiseptiques modernes. Il nous montre la supériorité du Solvéol, du Lysol et de la Créoline, dont la force antiseptique dépasse de beaucoup celle de l'acide phénique, et n'est dépassée que par le sublimé et notre mélange. Il nous montre aussi à quel point il faut en rabattre sur la valeur antiseptique de certaines substances, se donnant sur l'étiquette pour « 10 fois plus fortes que l'acide phénique pur », et en vérité plus faibles. Nous ne pouvons laisser sans mention une préparation « antiseptique », vendue comme « crésol français », achetée par nous dans une des premières pharmacies de Paris et dont une solution à 6 0/0 ne suffit pas pour tuer le staphylocoque doré. Or, ce crésol doit selon l'étiquette être em-

1. L'acide phénique que nous avons employé se vend dans le commerce sous le nom de « phénol cristallisé pur ».

ployé en solution de 15 grammes pour 1 litre d'eau ; à ce degré, il est dépourvu de toute action microbicide sur le staphylocoque. Il est évident que de telles préparations ne méritent aucune confiance.

Nous avons dit plus haut que la résistance du staphylocoque doré est de beaucoup supérieure à celle de la plupart des autres microorganismes à l'état végétatif. Voici à ce sujet (fig. 2) un tableau indiquant la quantité de Phénosalyl nécessaire pour tuer quelques-uns des microbes pathogènes au bout d'une minute de

	2	3	4	5	6	7	8
Charbon.....	■	■					
Pneumome.....	■	■	■				
Bac. pyocyan.....	■	■	■				
Fièvre typhoïde.....	■	■	■	■			
Diphtérie.....	■	■	■	■			
Tuberculose.....	■	■	■				
Staph. aureus.....	■	■	■	■	■	■	

Fig. 2.

contact. Les cultures employées étaient, comme toujours, des cultures dans du bouillon placées pendant 24 heures à l'étuve à 32°. Les chiffres indiquent la quantité de substance nécessaire pour un litre d'eau.

On voit que la résistance du bacille charbonneux est très faible, le bacille pyocyanique et le pneumo-bacille le suivent de près, les bacilles de la fièvre typhoïde et de la diphtérie sont plus résistants, mais meurent dans une solution à 5 0/00. Le staphylocoque doré est le plus résistant, exigeant une solution de 7 0/00.

La force antiseptique du Phénosalyl se manifeste d'une manière remarquable dans les liquides organiques. Des crachats tuberculeux mélangés avec 5 fois leur volume d'une solution à 2 0/0 sont stérilisés au bout de 15 minutes, et leur inoculation aux cobayes devient inoffensive. L'urine et le sang putréfié sont stérilisés dans les mêmes conditions au bout de 5 minutes.

## REVUES ET ANALYSES

---

B. RAYMAN et K. KRUIS. Études de chimie biologique. *Mittheil. d. Versuchsstation f. Spiritus industrie in Prag*, 1891.

Sous ce nom, MM. Rayman et Kruis publient les résultats de l'étude chimique et biologique d'anciennes bières, dont les unes avaient été conservées pendant quelques années en vases clos, à la façon ordinaire, tandis que les autres étaient restées pendant le même intervalle dans des ballons à deux cols, où elles avaient le contact de l'air sans en craindre la contamination. Ce sont à peu près les conditions de mes *Recherches sur la durée de la vie sur les germes de microbes et sur la conservation des levures* dont les dernières ont paru dans ces *Annales* (t. III, p. 375). MM. Rayman et Kruis, qui semblent n'avoir pas connu ces mémoires, arrivent sur beaucoup de points aux mêmes conclusions que moi. Je ne marquerai que ceux sur lesquels nous sommes en désaccord, et qui semblent exiger de nouvelles études.

Dans les anciens ballons que j'ai étudiés, et qui provenaient des études faites 15 et 20 ans auparavant par M. Pasteur, quelques-uns portaient collée sur les parois, au voisinage de la surface du liquide, une couronne adhérente formée par les cellules des levures aérobies. Mais la surface du liquide était nette et librement exposée à l'air. Dans les ballons de MM. Rayman et Kruis, il y avait une couche de fleur (*Kahmhaut*) formée par ces levures de surface, très bien décrites par M. Hansen, et que l'on considère depuis lors comme une forme particulière de développement des levures ou saccharomycètes. MM. Rayman et Kruis ne sont pas éloignés d'attribuer à l'action de ces cellules comburantes la disparition plus ou moins totale de l'alcool qu'ils ont observée dans le liquide sous-jacent. J'avoue que mon opinion n'est faite ni au sujet des levures aérobies de M. Pasteur, ni des levures de surface de M. Hansen. Je n'ai rien de pareil dans mon laboratoire. Parmi les centaines d'espèces de levures authentiques qui m'ont passé sous les yeux depuis vingt ans, et dont j'ai conservé ou je conserve encore des cultures pures, il n'y en a quasi aucune sur laquelle j'aie observé quelque chose de comparable aux descriptions de M. Pasteur ou de M. Hansen. Y a-t-il là une influence des conditions de culture? Les levures sur lesquelles j'ai opéré ont-elles perdu, après l'avoir possédée à l'origine, la faculté de former une couche de fleurs à la surface, ou bien ne l'ont-elle jamais possédée, et ce développement superficiel était-il dû à une impureté? J'incline vers cette dernière hypothèse, puisque ma propre expérience me montre que les espèces de levures donnant des *fleurs* sont extrêmement rares. Mais je reconnais qu'il y d'autres explications possibles, et c'est là un des points qui méritent de nouvelles recherches.



Ce qui ferait supposer qu'il y a eu quelque mélange dans les cultures de MM. Rayman et Kruis, c'est que deux de leurs levures, soumises aux méthodes usuelles de purification, ont perdu simultanément la faculté de donner des fleurs, et ne l'ont pas recouvrée après un long séjour en ballons à deux cols. Avec une troisième levure, il n'y a pas développement superficiel dans toutes les cultures, et quand il se fait, il est difficile. Au contraire avec une autre levure qui, celle-ci, est un vrai mycoderme, dans le sens que nous donnons en France à ce mot, c'est-à-dire qui forme *fleurs* à la surface des liquides de culture, se comporte comme agent comburant, et n'est qu'un ferment alcoolique très faible, avec cette prétendue levure, dis-je, le développement est toujours superficiel.

Ce fait s'explique évidemment beaucoup mieux, en admettant une impureté originelle, qu'une transformation dans les propriétés biologiques des cellules après un petit nombre de générations.

Que MM. Rayman et Kruis aient eu affaire à des levures pures, ou mélangées à des *saccharomyces mycoderma*, toujours est-il qu'ils les ont encore trouvées vivantes après quatre ans et demi. Je leur avais trouvé une survie de 17 ans dans l'une de mes expériences, et dans une expérience de contrôle que je viens de faire à propos de cette étude critique, j'ai trouvé une levure vieille de 20 ans, et dont plus de la moitié des cellules était capable de se régénérer en 24 heures dans un liquide approprié. MM. Rayman et Kruis ont trouvé comme moi que ces cellules s'appauvrissent beaucoup en azote, s'enrichissent en matière grasse, ce qui ne les empêche pas de tomber au fond du liquide et d'y former éventuellement des dépôts fort adhérents. Comme autre manifestation vitale et autre signe de vieillesse, elles donnent en beaucoup plus grande abondance que dans leur vie normale, des acides gras volatils. J'avais trouvé que ces acides étaient fréquemment de l'acide acétique et parfois de l'acide valérianique, MM. Rayman et Kruis trouvent qu'ils sont toujours formés d'un mélange d'acide valérianique et d'acide formique. Dans quelques-unes de mes expériences j'avais trouvé de l'acide acétique pur, sans traces sensibles d'acide formique, si bien qu'après quelques essais négatifs, j'ai renoncé à la recherche de cet acide. Dans l'expérience récente de contrôle que j'ai visée plus haut, j'en ai trouvé en effet, mais en quantités très faibles, mélangées à de l'acide valérianique prédominant. Il se peut par conséquent qu'il m'ait échappé quelquefois, et il faudrait alors l'ajouter aux acides dont j'ai indiqué la présence. La levure, en vieillissant, peut donc fournir des acides formique, acétique et valérianique, et il serait intéressant de savoir de quoi dépend la prédominance de l'un ou de l'autre de ces acides.

Le problème devient assez compliqué lorsqu'on tient compte de ce



fait, que MM. Rayman et Kruis ont trouvé de l'acide formique en quantités sensibles (0<sup>gr</sup>,17 par litre environ), dans un moût de bière conservé à l'abri des germes et au contact de l'air pendant 5 ans. Ils attribuent la formation de cet acide à un procès purement chimique d'oxydation agissant pendant ce long intervalle. L'acide formique est en effet, comme je l'ai montré, un des produits de l'oxydation lente de beaucoup de substances hydrocarbonées. Mais c'est aussi un produit de la vie cellulaire, et avant d'y voir un produit chimique d'oxydation, il aurait fallu chercher si on n'en trouvait jamais dans du moût récemment préparé, et s'il ne s'en produisait pas dans certains modes de maltage. Peut-être celui que MM. Rayman et Kruis ont trouvé partout provenait-il de cette origine. Dans mes expériences, dans quelques-unes au moins, je n'avais pas à retouter cette cause d'erreur, puisque les liquides de culture étaient faits avec de l'eau sucrée, et ce n'étaient pas les moins riches en acides volatils. J'avais été dès lors autorisé à toujours chercher dans la levure l'origine des acides produits. MM. Rayman et Kruis, qui annoncent l'intention de poursuivre leurs expériences, auront sûrement à cœur de pousser à fond l'étude de cette question, et de la débarrasser des incertitudes qui pèsent encore sur elle.

Dx.

## INSTITUT PASTEUR

### *Personnes mortes de rage après le traitement*

BALE GEORGES. 6 ans, de Kilkenny (Irlande), mordu le 15 novembre 1891, traité à l'Institut Pasteur du 22 novembre au 12 décembre. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 28 décembre, la mort est survenue le 5 janvier 1892.

Le jeune Bale avait reçu à la joue gauche, près de l'oreille, et sur le pavillon de l'oreille cinq morsures, dont une très pénétrante; il avait été cautérisé au nitrate d'argent environ 10 heures après la morsure.

John Harry, vétérinaire inspecteur à Kilkenny, avait examiné le chien mordeur et constaté la rage.

Cinq autres personnes avaient été mordues en même temps que le jeune Bale et par le même chien : trois d'entre elles mordues gravement à la tête ont été traitées à l'Institut Pasteur et sont actuellement en parfaite santé. Les deux autres n'ont subi aucun traitement et sont mortes atteintes de la rage.

(Renseignements fournis par M. John Harry et par le Dr James de Kilkenny.)

BENTO PEREIRA PIMENTA DE CASTRO. 15 ans, de Vianna de Castello (Portugal), mordu le 2 mars, traité à l'Institut Pasteur du 8 au 22 mars. Les premiers symptômes rabiques se sont manifestés le 6 avril, la mort est survenue le 9.

Bento avait reçu au pied gauche trois morsures : il avait été mordu par son chat qui depuis plusieurs jours, présentait des symptômes non équivoques de rage paralytique (tristesse, miaulement rabique, paralysie progressive).

## INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE <sup>1</sup> DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — AVRIL 1892.

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples . . . . .	»	2	»	8	»	2
et à la figure { multiples . . . . .	»	2	»	1	»	4
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	»	»	»	»
— inefficaces . . . . .	»	»	»	2	»	2
Pas de cautérisation . . . . .	2	»	7	»	4	»
Morsures aux mains { simples . . . . .	»	5	»	32	»	14
{ multiples . . . . .	»	11	»	21	»	7
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	1	»	»	»
— inefficaces . . . . .	6	»	7	»	5	»
Pas de cautérisation . . . . .	10	»	45	»	16	»
Morsures aux mem- { simples . . . . .	»	2	»	17	»	14
bres et au tronc { multiples . . . . .	»	2	»	10	»	9
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	»	»	»	»
— inefficaces . . . . .	1	»	40	»	5	»
Pas de cautérisation . . . . .	1	»	17	»	18	»
Habits déchirés . . . . .	2	»	23	»	22	»
Morsures à nu . . . . .	»	»	4	»	1	»
Morsures multiples en divers points du corps . . . . .	»	1	»	2	»	1
Cautérisations efficaces . . . . .	»	»	»	»	»	»
— inefficaces . . . . .	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation . . . . .	»	»	2	»	1	»
Habits déchirés . . . . .	»	»	2	»	1	»
Morsures à nu . . . . .	1	»	»	»	»	»
<hr/>						
Totaux. { Français et Algériens . . . . .	21	21	88	91	47	51
{ Etrangers . . . . .	»	»	3	»	4	»
	A		B		C	
<hr/>						
TOTAL GÉNÉRAL . . . . .			163			

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 150 fois; chats, 7 fois; hommes, 6 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et Cie.